

J. Croningen
1948

**OVER HET
SPECIFIEKE- EN PSEUDO
CHOLINESTERASEGEHALTE
BIJ ENIGE ZIEKTEN**

Gene Medical Library

Gene Medical Library

H. STRÄTER

OVER HET SPECIFIEKE- EN PSEUDO CHOLINE-
STERASEGEHALTE BIJ ENIGE ZIEKTEN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

OVER HET SPECIFIEKE- EN PSEUDO CHOLINESTERASEGEHALTE BIJ ENIGE ZIEKTEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD
VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE
GRONINGEN, OP GEZAG VAN DE
RECTOR-MAGNIFICUS Dr. W. H. ARISZ,
HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER WIS- EN NATUURKUNDE,
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG
21 APRIL 1948, TE 16 UUR

DOOR

HANS STRÄTER
ARTS

GEBOREN TE MAASTRICHT

Aan mijn Ouders
Aan mijn Verloofde



VOORWOORD

Bij het verschijnen van dit proefschrift voel ik mij genoodzaakt een woord van dank te richten aan hen, die mij hierbij behulpzaam waren.

Hooggeleerde Prof. Dr. F. S. P. van Buchem, zeer geachte Promotor onder wiens leiding ik meerdere jaren als assistent heb mogen werken, het is mij een behoefte tot U in het bijzonder een woord van grote dankbaarheid te richten.

Door Uw onvermoeide werklust en ijver zijt gij mij steeds een voorbeeld geweest. De jaren in Tilburg en Groningen zijn voor mij van onschatbare waarde gebleken.

U, Hoogleraren, Oud-Hoogleraren, Lectoren en Docenten van de Amsterdamse Universiteit, betuig ik mijn welgemeende dank voor het onderricht dat ik van U mocht ontvangen.

Voor U Hooggeleerde Brinkman, geldt mijn erkentelijkheid in het bijzonder wat het voltooiën van dit proefschrift betreft. U stelde mij in staat om op Uw laboratorium en met Uw hulp dit onderzoek te kunnen volbrengen. Steeds, zelfs in voor U moeilijke omstandigheden, stond U mij met woord en daad bij.

Hooggeleerde Mendel, U dank ik zeer voor het steeds beschikbaar stellen van de mecholyl, waardoor mijn hele onderzoek mogelijk werd.

Zeër geleerde Vegter, ook U dank ik voor al de hulp die gij mij steeds even welwillend verschaft.

Zeër geleerde Orie, jou dank ik zeer voor de grondige wijze, waarop je mij als Conservator bij mijn opleiding tot internist steeds hielp en mij de belangrijkheid van 't wetenschappelijk onderzoek deed inzien.

Zeër geleerde Corman, U zij bij deze ook dank gebracht voor Uw hulp.

Huisman, Huber en Kruizinga, op wie ik steeds 'n beroep kon doen, zij hier ook mijn erkentelijkheid betuigd. Vooral de prettige wijze van werken zal ik niet licht vergeten.

Alle assistenten met wie ik heb samengewerkt, dank ik voor de vriendschap, die onze omgang kenmerkte.

Ook alle Zusters en analysten van de medische afdeling, en zij die mij verder op enige wijze bij het voltooiën van dit proefschrift behulpzaam zijn geweest, dank ik zeer.

INLEIDING

De publicatie van L. Libbrecht in 1945 „de arteriele hypertoniën”, (52), waarin hij een verband beschrijft tussen de hypertensie's en het serumcholinesterase, was voor ons de aanleiding om een uitgebreid onderzoek te doen over de cholinesterasen in het bloed van verschillende patienten. Cholinesterase (4) is het ferment, dat de acetylcholine-hydrolyse versnelt, waarbij het acetylcholine gesplitst wordt in azijnzuur en choline en waarmee het acetylcholine omwerkzaam gemaakt wordt.

Zoals in hoofdstuk V nader uitgezet wordt onderscheidde Libbrecht 3 vormen van hypertensie:

1. De essentiële hypertensie met hoog normaal serumcholinesterase.
2. De renale hypertensie met normale cholinesterase-waarden.
3. De hypertensie met zeer hoge cholinesterase-waarden, die als kenmerk had het paradoxaal reageren op physostigmine, adrenaline etc.

Bij deze laatste categorie zag hij een zeer gunstig effect van prostigmine (dat, zoals naderhand zal blijken, een zeer sterke remmer van het cholinesterase is). Niet alleen werden de fermentwaarden normaal, maar ook zakte de bloeddruk aanzienlijk met deze prostigmine-behandeling. Daar tot dusver alle therapeutica bij de hypertensie min of meer faalden, leek het ons de moeite waard om niet alleen het serumcholinesterase, maar ook de erythrocyten-cholinesterase bij tal van patienten te onderzoeken. De school van Mendel (21) (Toronto) maakte n.l. melding van een cholinesterase, dat in de rode bloedlichaampjes zou voorkomen, en absoluut specifiek voor de choline-esters zou zijn, terwijl het serumcholinesterase niet specifiek zou zijn, d.w.z. het zou niet alleen de choline-esters maar ook de aliphatische esters splitsen.

Het erythrocyten-cholinesterase is door Mendel het specifieke cholinesterase genoemd, dit alleen is n.l. belangrijk voor de hydrolyse van het acetylcholine, dat vrij komt bij de prikkeling van de zenuwen.

Het interesseerde ons dus zeer, hoe het specifieke cholinesterase zich zou gedragen, niet alleen bij allerlei soorten van hypertensie, maar ook bij asthma bronchiale en myasthenie, in vergelijking met het serumcholinesterase. Vooral een vorm van hypertensie, de diencephale vorm, door Page beschreven, en naderhand naar hem genoemd, boezemde ons veel belang in, daar we hier toch een verhoogde sympathicustonus hebben.

Ter verduidelijking zullen we beginnen met een beschrijving van de physiologische betekenis van acetylcholine en zijn esterase in het algemeen (Hoofdstuk I).

Daarna zal meer speciaal de pharmacologie van het esterase worden besproken, omdat immers een mogelijke therapie op de kennis van deze pharmacologie zal moeten berusten. (Hoofdstuk II).

Hierbij zal ook wat uitvoeriger ter sprake moeten komen het probleem der ware of specifieke— en der niet-specifieke esterase. (Hoofdstuk III).

Als inleiding van ons eigen onderzoek volgt dan een overzicht van de betreffende methodiek en een beschrijving van de door mij zelf gevolgde werkwijze (Hoofdstuk III), waarna in een volgend hoofdstuk IV een verslag van de bij diverse patienten gevonden esterase-waarden wordt gegeven.

Ten slotte volgt de bespreking van de betreffende literatuur (Hoofdstuk V) en dan de eigen uitkomsten (Hoofdstuk VI).

INHOUD

	Pag.
INLEIDING	11
HOOFDSTUK I.	13
De physiologische betekenis van acetylcholine en zijn esterasen en het voorkomen er van.	
HOOFDSTUK II.	30
De pharmacologie der esterasen.	
HOOFDSTUK III.	38
De techniek der bepalingen.	
HOOFDSTUK IV.	62
Eigen onderzoek.	
HOOFDSTUK V.	83
Literatuur.	
HOOFDSTUK VI.	89
Bespreking der uitkomsten.	
a. Naar de algemene literatuur.	
b. Naar Libbrecht's uitlatingen.	
c. Eigen conclusies.	
SAMENVATTING	96
RÉSUMÉ	98
SUMMARY	100
ZUSAMMENFASSUNG	102
LITERATUURLIJST	104

HOOFDSTUK I

De physiologische betekenis van het acetylcholine

In het begin van deze eeuw dacht men aan de mogelijkheid, dat de overdracht van de prikkels van de efferente zenuw naar de spieren door een stoffelijk substraat zou geschieden.

In 1905 was Elliot de eerste, die veronderstelde, dat aan de sympathische zenuwuiteinden een stof als adrenaline zou vrijkomen, die op de cellen als sympathicusprikkel zou inwerken.

Het bekende onderzoek van O. Loewi in 1921 bracht dit idee naar voren (1a, 1.). Er kwam n.l. bij prikkeling van de vagus van het kikvorshart in de Ringeroplossing, die het hart vulde, een stof vrij, die gebracht in een ander hart het effect gaf, dat de vagus gestimuleerd werd. Loewi besloot hieruit, dat de vagus op het hart werkt door een stof vrij te maken, die de hartspier direct prikkelt. Hij noemde deze stof de „vagus“-stof. Later werd deze geïdentificeerd als zijnde het acetylcholine. Hij toonde ook aan, dat atropine het vrijkomen van de „vagus“-stof niet doet verminderen maar dat dit het effect er van op het hart wel voorkomt. Dat vagusprikkeling na eserine een verhoogd effect gaf, verklaarde hij door de remming van een enzym (cholinesterase), dat de „vagus“-stof vernietigde. De „vagus“-stof (acetylcholine) wordt n.l. normaliter door dit enzym geïnactiveerd door de hydrolytische splitsing in azijnzuur en choline. Het choline is inactief. Deze waarnemingen leidden tot een groot aantal onderzoeken en er kwamen argumenten voor de dag, die het inzicht, dat alle sympathische en parasympathische zenuwen op de organen werkten door middel van chemische tussenstoffen, steunden. Men neemt algemeen aan, dat acetylcholine de stof is, die de prikkels aan de parasympathische zenuwuiteinden overbrengt, terwijl adrenaline of volgens (21) Cannon en zijn medewerkers, sympathine, dezelfde functie heeft aan de sympathische zenuwuiteinden.

Het werk van Loewi had betrekking op de autonome zenuwen. Dale (3) trachtte dit inzicht uit te breiden en veronderstelde, dat acetylcholine ook de prikkels over de synapsen en de neuro-musculaire verbindingen der skeletspieren zou brengen. Hun inzicht was hoofdzakelijk gebaseerd op dezelfde proeven als bij het perifere autonome systeem: n.l. het vrijkomen van acetylcholine na prikkeling van praeganglionaire of motorische zenuwen; prikkeling van het sympathische ganglion en de dwarsgestreepte spier door kleine hoeveelheden acetylcholine, versterking van het effect van de zenuwprikkeling door eserine.

Er bleven echter tal van contradicties en moeilijkheden, die door Eccles beschreven werden, en het geheel was toch niet bevredigend. De eerste moeilijkheid was de tijdfactor. Deze factor was van minder belang bij de langzaam reagerende cellen, die door het autonome zenuwstelsel geïnerveerd werden. De overdracht van de zenuwimpulsen over de neuro-musculaire verbindingen (skeletspieren) en synapsen speelt zich

echter af in milliseconden. (N a c h m a n s s o h n) (4). En tot nu toe bestond er geen bewijs, dat het chemische proces met zo'n snelheid kon tot stand komen en verdwijnen, welke moeilijkheid door Dale en zijn medewerkers ook ten volle werd toegegeven.

Het tweede punt was nog moeilijker met de chemische mediator te rijmen. Volgens Sherrington, Fulton (6), Gasser en Erlanger waren de zenuwaxon en het cellichaam even prikkelbaar. De elektrische verschijnselen, die bij de nerveuse werking optraden, steunden niet de veronderstelling, dat de overdracht van de zenuwimpulsen door de axon fundamenteel verschilt van die over de synapsen. Het volgende ontlenen wij nu aan N a c h m a n s s o h n (137).

Twee verschijnselen bij de nerveuse werking zijn essentieel om de problemen te begrijpen:

1. De hoge snelheid van het voortgaan van de prikkel, en
2. De oneindig kleine energie, die er voor nodig is.

Deze snelheid bleek ± 100 m per seconde te bedragen en de energie hiervoor per impuls per gram zenuw was minder dan 0.1 van een miljoenste calorie. De registratie er van was zeer moeilijk en lukte pas aan Gasser en Erlanger met hun kathode-oscillograaf. Ook was het erg lastig om de hitte aan te tonen, die bij dit proces vrij kwam. Dit bleek pas mogelijk, toen men zeer fijne instrumenten had. Daar zelfs fysische methoden zoveel moeilijkheden ondervonden, was het wel duidelijk, dat het bestuderen van de chemische reactie nog lastiger was. Er bestond geen methodiek om zulke hoeveelheden chemische stoffen, die ook nog zo kort bestaan, aan te tonen. In 1939 gelukte het aan Von Muralt (9) om met zijn speciale methodiek (Einfrierverfahren) het acetylcholine in de zenuwen aan te tonen.

De ontwikkeling van de fysiologische chemie liet zien, dat we in deze gevallen veel kunnen vinden bij de studie van de enzymen. En wel de enzymen, die de vorming en hydrolyse van acetylcholine bewerkstelligen. Naast het bestuderen van de enzymwerking in vitro, werd op verschillende ogenblikken de enzymactiviteit van de levende cel met fysische methoden aangetoond. Hierbij bleek, dat de oorspronkelijke theorie over de rol van het acetylcholine onjuist was. Er zijn argumenten voor een nieuwe opvatting over de rol van de ester in het mechanisme van de zenuwactiviteit.

Volgens deze theorie staat het ontstaan en verdwijnen van acetylcholine, hetgeen een intracellulair proces is, en plaats grijpt langs het neuronale oppervlak, in direct verband met de zenuwactie potentiaal. Hiervoor pleiten:

1. De tijdfactor (6, 10, 7, 8).

Acetylcholine wordt geïnactiveerd door het enzym cholinesterase, dat de ester hydrolyseert in choline en azijnzuur. Uit de eerste studies over het cholinesterase, bleek dat dit enzym in zeer hoge concentratie in het zenuwweefsel aanwezig is, die hoog genoeg is om belangrijke hoeveelheden acetylcholine gedurende 0.001 seconde (d.w.z. gedurende het

passeren van de zenuwimpuls) te splitsen. Evenzo is de acetylcholine-stofwisseling hoog genoeg om het vermoeden te rechtvaardigen, dat deze parallel loopt met de elektrische veranderingen en daarom direct in verband gebracht kan worden met de zenuwactie potentiaal. Het probleem van de tijd, is speciaal met gunstig resultaat bestudeerd bij de Sartoriuspier van de kikvors. Hierbij bleek, dat de cholinesterase-concentratie in de motorische eindplaatjes hoog genoeg was om snel acetylcholine te splitsen. Deze hoge concentratie bestaat verder in alle synapsen (centraal, peripheer). Het verschil tussen de synapsen en de zenuwvezels is alleen quantitatief. De concentratie van het cholinesterase is overal hoog in de zenuwen, al is deze hoger in de synapsen.

2. De localisatie van het cholinesterase aan het neuronale oppervlak.

Het tweede essentiële punt voor deze theorie is de localisatie van het cholinesterase aan het neuronale oppervlak. Een direct bewijs voor deze localisatie werd verkregen bij de proeven met het reuzenaxon van de Squid. Het axoplasma kan er uit gehaald worden; dit bleek totaal geen cholinesterase te bevatten. De hele cholinesterase-activiteit zit in de schede.

Deze exclusieve localisatie van het enzym in het neuronale oppervlak werd alleen maar voor dit enzym gevonden. De hoge concentratie van het enzym aan het oppervlak doet veronderstellen, dat acetylcholine in verband staat met de geleiding langs het axon en met de overdracht over de synapsen (N a c h m a n s o h n) (37).

De hoge acetylcholine-stofwisseling en de localisatie van het enzym aan het neuronale oppervlak maken de veronderstelling mogelijk, dat de ester verband houdt met de elektrische manifestaties van de zenuwactiviteit. Om de rol van het acetylcholine duidelijk te maken moest de enzym-activiteit in verband staan met het gebeuren in de levende cel. Zo'n correlatie werd gevonden bij de onderzoeken op de elektrische vis. Hierbij bleek dat de enzymactiviteit in deze organen parallel loopt met het voltage van de actie potentiaal.

3. Parallelisme tussen de enzymactiviteit en het voltage van de zenuw-potentiaal.

De machtige elektrische ontlading in deze organen is identiek met de zenuwactie-potentiaal van de gewone zenuwen.

Het enige verschil bestaat in de rangschikking van de zenuwelementen, die bij deze organen in serie staan. Het potentiaalverschil van één element is ± 0.1 volt, dat even groot is als in de gewone zenuwen. Bij de Electrophorus electricus, staan meer dan 1000 elementen in serie van de kop tot de staart van het orgaan. Bij een elektrische ontlading komt een voltage van 400—600 volt vrij. Bij de torpedo staan de platen in dorsoventrale richting, zodat hier de ontlading slechts 30—60 volt bedraagt.

Een enorm hoge concentratie aan cholinesterase werd nu in deze elektrische organen van de torpedo en de electrophorus electricus gevonden. Dit orgaan hydrolyseert in 1 uur hoeveelheden acetylcholine, die overeenkomen met 1—5 maal hun eigen gewicht. De grotere organen, meerdere kilo's zwaar, kunnen meerdere kilogrammen acetylcholine per uur splitsen, of verschillende miligrammen in 0.001 seconde.

Het zo snelle afbreken van deze stof kan alleen een enzym bewerkstelligen. De hoge concentratie van een specifiek enzym scheen vooral belangrijk als we letten op de chemische samenstelling van deze organen, n.l. 92% water, en slechts 2% eiwit. Een gedetailleerde analyse werd verricht bij het elektrische orgaan van de *Electrophorus electricus*. Dit orgaan is enorm gunstig voor zo'n onderzoek, daar het aantal zenuwplaten per cm^2 en dus ook het voltage per cm^2 vermindert van de kop naar het caudale einde van het orgaan. De cholinesterase-activiteit vermindert precies evenzo. Het quotient $\frac{\text{cholinesterase activiteit}}{\text{voltage}}$ bleef con-

stant. Hierdoor werd een direct verband tussen het chemische en fysische gebeuren duidelijk, en dus een direct verband tussen acetylcholine en de actiepotentiaal hoogstwaarschijnlijk.

Het voltage, dat ontwikkeld wordt bij het vrijkomen van de acetylcholine, hangt af van de electromotorische kracht, de stroomsterkte en de weerstand.

Hoe werkt acetylcholine nu?

Het kan een electromotorische kracht veroorzaken door de werking op het oppervlak of het kan de weerstand van de membraan verminderen door deze meer permeabel te maken. Weerstand en electromotorische kracht zijn eigenschappen, die nauw met elkaar in verband staan. Uit de proeven op de zenuwen blijkt, dat het acetylcholine de weerstand en de permeabiliteit verandert.

Bij het reuzen axon van de *Squid* werd gevonden, dat bij het passeren van een impuls de weerstand daalt van 1000 ohm tot 25 ohm per cm^2 . Dit werd ook bij het elektrische weefsel gevonden. Er bestaat geen strikt bewijs, dat de electromotorische kracht wordt veroorzaakt gedurende het passeren van een impuls. Het parallelisme tussen voltage en stofwisseling van het acetylcholine is hoofdzakelijk te wijten aan het effect van de ester op de weerstand van de membraan of wat er mee overeenkomt met zijn permeabiliteit.

4. Over de rol van het acetylcholine in het mechanisme van de nerveuse werking.

Volgens de membraantheorie is de zenuw omgeven door een gepolariseerde membraan. De polarisatie van de membraan is te wijten aan een selectieve permeabiliteit voor Kaliumionen, waarvan de concentratie in het axon veel groter is dan er buiten. Gedurende het passeren van een impuls wordt de permeabiliteit van de membraan voor negatieve ionen groter, en een depolarisatie komt tot stand. Het snelle komen en gaan van het acetylcholine speelt een essentiële rol in deze verandering in de doorgankelijkheid van de membraan. Het gepolariseerde punt wordt nu elektrisch negatief geladen en er ontstaat een stroom. Deze stroom prikkelt weer het volgende punt. Daar ontstaat weer acetylcholine en het hele proces wordt weer herhaald. Zo gaat de impuls langs het axon. Aan de zenuwuiteinden is het proces fundamenteel hetzelfde. De stroom draagt de impuls over „de open ruimte” heen. Andere factoren als een groter oppervlak en daardoor verminderde weerstand kunnen de efficiëntie van dit proces verhogen. Vroeger werd acetylcholine beschouwd als neuro-humoraal

overdrager, d.w.z. een stof die vrij kwam aan de zenuwuiteinden en direct werkte op een tweede neuron. Volgens de nieuwe opvattingen is het overbrengende agens steeds de elektrische stroom, de actie potentiaal, maar de stroom wordt opgewekt door veranderingen in de membraan, waarvoor het vrijkomen van acetylcholine van essentieel belang is.

Dit stemt overeen met de bevindingen van von Muralt (9). In 1939 lukte het hem om in de zenuwen acetylcholine aan te tonen, dat tijdens de prikkeling ontstaan was (Einfrierverfahren). Hierbij bleek, dat bij prikkeling per gram zenuw 0.1 acetylcholine vrij komt en dat deze weer zeer snel verdwijnt. Hoe meer prikkelgolven er ontstaan, des te groter is de acetylcholine-hoeveelheid. Bij de secundaire degeneratie van de zenuwen daalt het acetylcholinegehalte er van in eens. De mogelijkheid om prikkels te vormen verdwijnt, als het acetylcholinegehalte onder 10% van het normale daalt. Aan het zenuwuiteinde speelt de acetylcholine de rol van mediator, in de zenuwvezel zelf is het de „actiestof”. In de zenuw zelf staat het acetylcholine geheel in de dienst van de prikkelvorming, terwijl de voortplanting van de prikkel naar de volgende, nog niet geprikkelde plaats geschiedt door middel van elektrische velden, die van de geprikkelde plaats uitgaan. Aan de zenuwuiteinden zelf is acetylcholine de depolarisator waardoor de prikkels overgebracht worden. Het is niet nodig om aan te nemen, dat de overdracht langs het axon wezenlijk anders is dan die over de synapsen. Juist dit verschil in de gang van zaken langs zenuw en over synapsen was de grote moeilijkheid voor de vroegere theorie.

5. De energiebron voor de zenuwactie potentiaal.

Nog een argument voor het verband tussen acetylcholine en de zenuwactie potentiaal kunnen we vinden in de overgang van de chemische in de elektrische energie. Vooral het elektrische orgaan geeft genoeg materiaal om de chemische reacties te onderzoeken, die de zenuwactie potentiaal de energie verschaft. In de zenuwen zijn deze hoeveelheden te klein om ze goed te meten en met elkaar te vergelijken. De elektrische energie per gram zenuwweefsel en per impuls ligt in dezelfde orde van grootte als de energie, die vrij komt door de dephosphorylering van phosphocreatine.

De energie van het melkzuur, dat ook in de zenuwen ontstaat, zou weer dienen voor de phosphorylering van de creatine. De energierijke phosphaten zouden zo de energie verschaffen voor de actiepotentiaal en weer energie leveren voor de synthese van het acetylcholine, dat primair de oppervlaktemembraan verandert bij het passeren van een impuls.

De hoeveelheden acetylcholine, die gemetaboliseerd worden stemmen overeen met die van de gefosphoryleerde bestanddelen.

6. De Specificiteit van de cholinesterasen (zie hoofdstuk II).

In de hersenen, zeesterzenuw, de zenuwvezels van Squid en het elektrische weefsel komt alleen een specifiek cholinesterase voor. Het enzym uit het elektrisch weefsel is hetzelfde, als dat wat zeer sterk gezuiverd is.

7. De affiniteit van bepaalde stoffen tot het cholinesterase zoals coffeine, atebriene etc. (78) (hoofdstuk II).

8. De cholinesterase gedurende de groei.

Een andere correlatie tussen de acetylcholine stofwisseling en functie is gevonden bij de proeven bij embryonale weefsels. Gedurende de groei bereikt het cholinesterase z'n hoogste concentratie in het zenuwweefsel en in de motorische eindplaatjes als de functie zich ontwikkelt (N a c h m a n s o h n) (45).

9. De vorming van acetylcholine door choline-acetylase (62, 104).

Wij zouden weer een argument hebben voor de veronderstelling, dat het vrijkomen van de ester essentieel is voor de veranderingen van de membraan, die weer nodig zijn om de prikkel door te zenden, als wij konden aantonen, dat de energie van het primaire herstelproces werkelijk gebruikt wordt voor de resynthese van het acetylcholine. Zo werd een nieuw enzym het choline-acetylase uit de hersenen geëxtraheerd, dat in een oplossing zonder cellen, onder anaerobe voorwaarden met adenosinetriphosfaat acetylcholine vormt.

Eserine en fluoride is nodig om respectievelijk de werking van cholinesterase en adenosinetriphosfaat te remmen.

We moeten de splitsing van adenosinetriphosfaat remmen, daar het anders te snel geschied. Fluoride remt deze splitsing, maar tast het transport van de energie-rijke fosphaten niet aan.

Het enzym kan ook geëxtraheerd worden uit hersenen, die gedroogd zijn met aceton. In dit extract is het enzym 2 maal zo zuiver als dat wat verkregen wordt uit vers hersenweefsel.

1 gram kan 3—4 mgr. acetylcholine per uur vormen. We hoeven er geen eserine bij te doen, om het cholinesterase te blokkeren, dit doet het aceton al. Ook hebben we geen fluoride nodig, daar adenosinetriphosfaat ook uit de extracten van hersenen, die gedroogd zijn met aceton, verdwenen is.

Dit enzym is dus een ander dan het enzym, dat acetylcholine hydrolyseert. Kalium heeft het enzym wel nodig. Het bevat actieve sulphydrylgroepen, die door monojood-azijnzuur of koper snel geïnactiveerd worden. De SH-groepen worden gemakkelijk door lucht geoxydeerd, vandaar dat de snelheid van de acetylcholine-vorming lager is in lucht, dan in een anaeroob milieu. Cysteïne zet de vorming sterk aan. Door dialyse verliest het snel zijn activiteit. Dit doet veronderstellen, dat het een co-enzym nodig heeft. Kalium en glutaminezuur reactiveren het. Cyanide of vervanging van glutaminezuur door cysteïne geven een volledig herstel van de enzymactiviteit. Het effect van zowel glutaminezuur als van citroenzuur, ofschoon geringer dan van cysteïne, blijkt belangrijk. Het effect van glutaminezuur kan niet verklaard worden door een werking op de SH-groepen van het ferment.

Price, Waelsch, Putnam zagen een gunstig effect van glutaminezuur op patienten die „petit mal” aanvallen hadden. Bij 'n „petit mal” hebben we een verminderde hoeveelheid acetylcholine in het C.Z.

Glutamine-zuur, dat de choline-acetylase aanzet, doet zo weer acetylcholine ontstaan. De „petit mal” aanvallen verdwijnen dan.

Bij epilepsie hebben we juist te veel acetylcholine in het C.Z., vandaar dat pyrodruivenzuur anti-convulsief werkt.

Het belang van het effect van glutaminezuur op de choline-acetylase, wordt door deze klinische observatie nog groter, daar een verband tussen de klinische werking en de enzymreactivatie duidelijk is.

De oxydatieproducten van aminozuren, de α -ketozen (pyrodruivenzuur etc.) remmen sterk de acetylcholinevorming in concentraties van 10^{-3} tot 10^{-4} M. Deze concentraties liggen dicht bij die, die in de levende cellen voorkomen.

Pyrodruivenzuur is bekend als een anticonvulsium. Het sterke remmende effect van de α -ketozen op de vorming van acetylcholine is daarom zowel voor de physiologie als voor de kliniek van belang.

10. Ook in de perifere zenuwen wordt acetylcholine net als in de hersenen onder invloed van choline-acetylase gemaakt. Men heeft het choline-acetylase evengoed uit de perifere zenuwen als uit de hersenen kunnen extraheren.

Twee dagen na doorsnijding van de nervus ischiadicus, als er nog steeds geleiding mogelijk is, zakte de enzymconcentratie slechts 25%, op de derde dag als de geleiding is opgeheven, zakt deze 65%. De sterke mate van acetylcholine vorming in de perifere zenuwen en de waarnemingen omtrent het verband tussen functie en acetylcholine concentratie bij de degeneratie, zijn te rijmen met de theorie dat acetylcholine direct met de geleiding te maken heeft.

11. Zenuwactie potentiaal en remming van de cholinesterase.

Een van de steunpilaren voor de neuro-humorale of chemische overdrachttheorie van de prikkels was het experiment, dat acetylcholine in de synapsen gebracht, stimuleerde. Appliceren we het echter op het axon, dan zien we geen effect. Zoals we later zullen zien in hoofdstuk II is acetylcholine een quaternaire ammonium base (49) en deze kan niet in de lipoidmembraan, die de vezel omringt, binnendringen, zodat we van het acetylcholine bij applicatie op het axon geen effect zien. Als acetylcholine depolariseert en als cholinesterase de actieve ester verwijdert, zodat polarisatie na het passeren van de impuls weer mogelijk wordt, dan zal het remmen van het enzym in voldoende mate de zenuwactie-potentiaal vernietigen.

Eserine staat bekend als een sterke remmer van de cholinesterase. Het is een tertiaire amine (49) en kan daarom in het lipoid doordringen. Experimenten op het reuzen axon en de fijne zenuwen van de Squid laten zien, dat eserine de actiepotentiaal verandert en tenslotte opheft. Dit effect is reversibel, evenals dat van strychnine, dat het pas in hogere concentraties doet.

Er bestaat dus een nauw verband tussen enzym-activiteit en zenuw-actie potentiaal (in dit geval het perifere axon).

Prostigmine heeft in vitro, hetzelfde effect als eserine, maar heeft geen effect op de zenuwactie potentiaal, omdat het evenals acetylcholine 'n quaternaire ammonium base is, en dus niet kan penetreren in het lipoid-membraan. Dit werd door het volgende experiment aangetoond:

Het axoplasma, dat in een eserine-oplossing was gehouden, werd er uitgehaald, en getest op z'n remmende eigenschappen op gezuiverd cholinesterase. Zelfs in een duizendvoudige verdunning waren in het axoplasma door zijn remming op de cholinesterase, kleine hoeveelheden eserine aan te tonen. Het axoplasma van zenuwen in een prostigmine-oplossing gehouden had geen effect op de cholinesterase.

Deze onderzoeken laten zien, waarom prostigmine en acetylcholine slechts op de zenuweinden werken, die geen hyaline-schede hebben, en waarom zij inactief zijn als ze op het axon geapliceerd worden.

Alleen op electrisch weefsel kan de macht van acetylcholine om een actiepotentiaal te veroorzaken, getoond worden. Injectie van acetylcholine geeft dezelfde veranderingen in het potentiaal als gedurende de ontlading. Electrisch weefsel is dan ook een verzameling van zenuwuiteinden, die niet beschermd worden, in tegenstelling tot de axons, door de lipoid-membraan, daarom kunnen ze ook reageren. De eigenaardigheid van de synaps om op ingespoten acetylcholine te reageren, kunnen we niet meer toeschrijven aan een verschil in het fundamentele physico-chemische proces, ten opzichte van de zenuwimpulsen, maar als een verschil in histologische structuur.

Bij het slot van onze beschouwingen moeten nog nader de 2 experimenten geanalyseerd worden (N a c h m a n s o h n), die als hoofdargumenten golden voor de hypothese, dat de ester vrijkomt aan de zenuwuiteinden, en na de synaps of motorische eindplaatjes gekruist te hebben, direct werkt op het tweede neuron, of op de vezel van de spier. Deze waren:

1. de stimulerende werking van acetyl-choline als het gebracht werd op de synapsen.
2. Het verschijnen van de ester in de doorstromingsvloeistof na zenuw-prikkeling.

We hebben juist aangetoond waarom het effect van acetylcholine-esters extern geapliceerd, beperkt is tot de zenuwuiteinden, dan is het stimulerende effect niet noodzakelijkerwijs een physiologische effect, maar kan evengoed een pharmacologische werking zijn. Het verschijnen van acetylcholine in de doorstromings-vloeistof na zenuwprikkeling, was een belangrijke observatie, gezien het deed vermoeden, dat acetylcholine in verband staat met de zenuwactiviteit. Het verschijnen van deze stof in de doorstromings-vloeistof is echter geen voldoende bewijs, om te besluiten, dat deze stof buiten de cellen werkt. Veel stoffen van het intermediaire celmetabolisme kunnen buiten de cel komen. Zelfs als het grootste deel van een stof snel gemetaboliseerd wordt door de intracellulaire enzymen, kan toch een kleine fractie lang genoeg blijven bestaan om aan de enzymatische werking te ontsnappen en zo uit de cel te lekken. Dit kan ook bij acetylcholine voorkomen, niettegenstaande de hoge cholin-

esterase concentratie in de cel. Maar zoals we weten uit de experimenten met de gedegenereerde zenuwen, is slechts een deel van het enzym in de cel gelocaliseerd. Een ander deel van het enzym zit aan de buitenkant, klaarblijkelijk om de cel te beschermen tegen het storende effect van het naar buiten lekken van het acetylcholine.

Ten einde hun theorie te verifiëren of de hoeveelheid acetylcholine, die vrij komt aan de zenuwuiteinden, groot genoeg was om een tweede eenheid te kunnen prikkelen, deden Dale en zijn medewerkers 2 proeven.

Zij bepaalden ten eerste de minimale hoeveelheid acetylcholine, die nodig was om een prikkel te weeg te brengen en vergeleken deze met de hoeveelheden, die vrij kwamen. Zij vonden echter bij het ganglion cervicale superior slechts 1/40000 van de acetylcholine, die nodig was om als prikkel te dienen in de doorstromingsvloeistof per impuls.

Bij de spier vonden ze maar 1/100000 deel van de hoeveelheid acetylcholine nodig om een spiershock te veroorzaken. De toestand was nog gecompliceerder, daar deze kleine hoeveelheden, slechts als er eserine bij was, gevonden konden worden, daar eserine dan de hydrolyse van deze kleine hoeveelheden acetylcholine zou remmen.

De hoge enzymconcentratie aan het neuronale oppervlak vormt een geweldige barrière voor het ontsnappen van de esters. Zelfs zonder te letten op de bestaande contradicties, is het erg moeilijk te geloven, dat onder physiologische omstandigheden, d.w.z. zonder eserine, de kleine hoeveelheden acetylcholine, die vrij komen de barrière kunnen passeren en dan steeds in voldoende concentratie aanwezig zijn om een prikkel te vormen.

Wat zou nu de rol van het cholinesterase kunnen zijn, dat in de erythrocyten (13, 14, 15, 25, 26, 27, 30, 31, 32, 35; 51, 63; 65) aanwezig is en wat door mij met het serum-cholinesterase bepaald werd. Men zou kunnen denken, dat het acetylcholine-esterase der rode bloedlichaampjes tot taak had een eventueel uit zenuwweefsels ontsnappend acetylcholine onmiddellijk te hydrolyseren. Anders zou immers een sterke locale vagusprikkeling een meer of minder langdurig vagotonisch na-effect hebben, zoals ook werkelijk het geval blijkt te zijn, als het esterase volledig vergiftigd is. Voor deze hypothese is dan nog nodig, dat acetylcholine zeer snel in de rode cellen kan binnendringen. Men zou deze taak ook kunnen toeschrijven aan het algemene esterase, die in het plasma circuleert, en die in dit verband pseudo-cholinesterase genoemd moet worden. Daartegen pleit echter, dat in het konijnenbloed (5) praktisch geen pseudo-cholinesterase voorkomt en in het schapenplasma in het geheel niet, terwijl ook hier de bescherming tegen gediffundeerd acetylcholine duidelijk aanwezig is. We herinneren verder aan het bekende verschijnsel, dat intraveneus ingespoten acetylcholine slechts een zeer kortdurende werking heeft door deze hydrolyse. Daarom heeft men juist naar andere choline-verbindingen gezocht, om een langduriger effect te krijgen b.v. doryl (carbominoyl choline).

Men zou echter kunnen veronderstellen, dat er toch bij de verhouding tussen de diffusie uit de geprikkelde cellen tot de hydrolyse na indringen in de rode bloedlichaampjes, een gering overschot aan deze uiterst werk-

zame stof zou kunnen blijven circuleren, als een componente van de physiologische vagotonie in balans met een physiologische sympathicotonie. Deze hypothese komt dan in het natuurlijk verband te staan met de opvatting van Libbrecht (52), waarbij een verhoogd cholinesterase dit laatste beetje acetylcholine zou hydrolyseren en daarbij de neiging tot sympathicotonie zou doen toenemen.

Natuurlijk is voor een bescherming tegen acetylcholine-diffusie uit de zenuwcel in de eerste plaats het hersencholinesterase zelf werkzaam en vervult dus het bloedcholinesterase slechts een secundaire rol. De sterke uitbreiding van de acetylcholinewerking na zenuwprikkeling, zoals die gevonden wordt na de vergiftiging met eserine, moet worden toegeschreven aan de vergiftiging van het enzym, zowel in de hersenen als in de rode bloedlichaampjes. Het duidelijke verband tussen het cholinesterase in de rode bloedlichaampjes en in de hersenen bleek ook uit de proeven van Gunter en Mendel. Zij deden bij konijnen met eserine de volgende proef:

Zij bepaalden de dosis eserine, die bij konijnen intraveneus ingespoten, nog juist geen tekenen van acetylcholinevergiftiging gaf. De volgende dag werd dezelfde dosis eserine weer ingespoten en de cholinesterase-activiteit van het bloed (konijnenbloed (5) bevat hoofdzakelijk het specifieke cholinesterase) en hersenen (23) werd 7—12 minuten later manometrisch bepaald. Hierbij werd gevonden, dat de remming van het cholinesterasegehalte van bloed en hersenen sterker dan 50 en 80% respectievelijk moest zijn, voordat de eerste tekenen van een acetylcholine-vergiftiging duidelijk werden. Hieruit bleek tevens, dat er een belangrijk surplus aan cholinesterase in bloed en hersenen aanwezig is.

Ook Koëlle en Gilman (5) zagen lichte parasymptomimetische verschijnselen bij ratten optreden, als het specifieke cholinesterase-gehalte in de hersenen 79 tot 72% was gedaald en bij een daling in het plasma van 73%.

Uit deze proeven blijkt dus dat er een innig verband tussen het cholinesterase in de erythrocyten en in de hersenen is. Uit alles wat is vermeld wordt nu duidelijk, dat het cholinesterase voor het begrip der acetylcholinefunctie als zenuwprikkelingsstof zeer belangrijk is. Voordat we echter verder gaan, moeten eerst de proeven van Heymans (109, 110) worden vermeld, die deze belangrijkheid van het enzym ontkennen. Heymans en medewerkers gebruikten de volgende proefopstelling:

Zij namen de techniek van de gekruiste circulatie waarbij men een hondenkop B, doorstroomt door middel van het circulatie-apparaat van een andere hond A. De doorstroomde kop van hond B blijft slechts verbonden aan zijn romp door middel van de n. vagus. De romp van hond B wordt in leven gehouden door kunstmatige ademhaling. Men registreert de hartfrequentie van de romp van hond B en bij zekere proeven de ademhalingsbewegingen van de kop van hond B.

Op deze wijze kan men het prostigmine (als anticholinesterase) evenals het atropine of uitsluitend laten inwerken op de centra van de kop van hond B of op de romp van hond B.

De eventuele veranderingen in de overdracht van diverse nerveuse-

prikkels, hetzij centraal of perifeer, werden geregistreerd. Hij heeft primair nagegaan de invloed van atropine op de centrale overdracht van de prikkels. Allereerst prikkelde hij het centrum, dat de hartfrequentie remt. Hij deed dit door verhoging van de druk in de sinus caroticus van de kop van hond B of door de druk te verhogen in de aorta van de romp van hond B, die met z'n kop verbonden is, alleen maar door de centripetale aortazenuwen en de centrifugale cardiale zenuwen. De verhoging van de endovasculaire druk werd teweeggebracht door een adrenaline injectie, of in hond A, (door doorstroming van de kop van hond B) of in de romp van hond B.

De bradycardie in de romp B, die door de hypertensie (sinus caroticus) in de kop van hond B ontstaat, treedt ook op als we van te voren atropine via de circulatie van hond A, gebracht hebben in de kop van hond B.

Hieruit blijkt, dat atropine de perifere centripetale vezels, noch de centrale vezels, van de reflexbaan van het hart remmende centrum paralyseert.

De sterke bradycardie in de romp B opgewekt door de adrenaline injectie via hond A in de kop van hond B wordt veroorzaakt door het sinus caroticusreflex en is niet centraal van oorsprong. Dit laatste wordt aangetoond door de denervatie van de sinus caroticus van de kop van hond B, dan zien we dat noch een hypertensie, noch de adrenaline in de kop van hond B een bradycardie in de romp van hond B kunnen doen ontstaan. De hypertensie, ontstaan door een intraveneuse adrenaline injectie, in de romp van hond B veroorzaakt een remming van de ademhaling, zelfs een apnoe van de kop van hond B.

Sputen we nu van te voren atropine in de kop van hond B, dan zien we dat de reflectoire bradycardie, noch de remming van de ademhaling noch de apnoe beïnvloed worden. Atropine werkt nu alleen op het centrum dat de ademhaling en het hart remt, doordat het in de kop van hond B is ingespoten.

Ook de anaemie opgewekt in de kop van hond B geeft na atropine dat ook in de kop van hond B is ingespoten, toch een sterke bradycardie van de romp van hond B.

Hetzelfde ziet men, als men nicotine op het geatropiniseerde hartremmende centrum laat inwerken.

Acetylcholine geeft nog een sterke remming van het hart en de ademhaling als atropine in de kop van hond B is ingespoten. Prostigmine versterkt deze werking van acetylcholine, mogelijk door z'n anti-cholinesterase eigenschap.

Secundo ging hij de invloed na van prostigmine en eserine op de centrale en perifeer overdracht van de prikkel. De reflectoire bradycardie (door adrenaline opgewekt) werd onderzocht en vergeleken met de bradycardie voor en na de inspuiting van prostigmine in de kop van hond B (dus bij het hart remmende centrum). Dan blijkt dat de bradycardie met prostigmine (in de kop van hond B ingespoten) hetzelfde blijft. Sputen we de prostigmine in de romp van hond B, dan zien we een sterkere bradycardie, die ook langer blijft bestaan. De hoeveelheid pros-

tigmine, die de activiteit van de cholinesterase totaal bleek te blokkeren sensibiliseerde het hart remmende centrum niet voor de prikkel, die ontstond door de bloeddrukverhoging, terwijl ze wel de perifere hart-zenuwen sensibiliseerde.

Dat het prostigmine het hart voor vagale prikkels sensibiliseert is bekend. Is deze perifere sensibiliserende werking van prostigmine nu een remming van de cholinesterasen of is deze te wijten aan de specifieke farmacologische werking van deze stof? Om deze vraag op te lossen deden zij het volgende experiment.

Bij het intacte dier bonden zij de efferente arteriën van de sinus caroticus af, zorgvuldig er voor zorgend dat de innervatie (die zo gevoelig is voor druk) intact bleef. Het deel van de arteria carotis dat naar de kop gaat, werd verbonden aan een apparaat, waarmee hij de druk in de sinus caroticus kon variëren. Eerst ging hij na de invloed van prostigmine op de reflexen die de hartslag remmen. Hieruit bleek dat prostigmine het reflex dat de hartslag remt, versterkt en verlengt. Deze reflex werd opgewekt door de druk te verhogen in de sinus caroticus. Deze sensibilisatie van het vagale hartremmende reflex door prostigmine is perifeer en niet centraal van oorsprong, zoals later gebleken is. Vervolgens bestudeerden zij de werking van prostigmine op de vaatreflexen (sinus caroticus).

Om de hartreflexen uit te sluiten werden de cervicale vagustakken doorsneden. Zo zagen zij, dat een grote dosis prostigmine, die totaal de cholinesterasen remden, totaal geen verhoging gaf van de reflexen, die een vaatverwijding doen optreden, tengevolge van de verhoging van de druk in sinus caroticus. Ook de ademhaling evenals de vaatverwijding en vaatcontractie blijven hetzelfde met en zonder prostigmine. Zo zagen zij dus, dat prostigmine wel de hartremmende reactie van de vaten, opgewekt door drukverhoging in de sinus caroticus, versterkt echter niet de reflexen op de ademhaling en de vaten, die eveneens opgewekt werden door drukveranderingen in de sinus caroticus.

De versterking van de werking van de vagus, die het hart remt, is perifeer en niet centraal van oorsprong. Volgens Verlot vergemakkelijkt eserine ook niet de centrale prikkeloverdracht van het centrale hartremmende centrum. Volgens Nachmansohn zouden eserine en prostigmine weinig in lipoiden oplossen en zo niet gemakkelijk de cholinesterase-activiteit kunnen beïnvloeden. Volgens Heymans wordt deze tegenwerping te niet gedaan door het volgende onderzoek: n.l. over de invloed van het di-iso-propyl-fluoro phosphaat op de hart-, vaat- en ademhalingsreflexen, die opgewekt worden vanuit de sinus caroticus: hij spoot in 1/10 tot 4/10 mgr. van deze stof, die zeer sterk het cholinesterase remt, zodat de cholinesterasen van het plasma van de rode bloedlichaampjes en van het zenuwweefsel totaal geremd werden. Tot 3 mgr. per kilo lichaamsgewicht intraveneus ingespoten, zag hij bij de hond totaal geen reacties optreden, terwijl de activiteit van bloed- en hersencholinesterase totaal opgeheven was. Hij gebruikte de micropotentiometrische methode volgens Delaunois en Casier (20). De remming van de activiteit was $\pm$ 12 uur totaal, daarna zag hij weer een

langzame stijging in activiteit optreden, die na 14 dagen weer tot 100% was gestegen. Het was nu zeer opmerkelijk, dat het D.F.P. in zo'n hoge dosering bij de hond totaal geen verschijnselen gaf, terwijl toch de cholinesterasen van het plasma van de rode bloedlichaampjes en van het hersenweefsel totaal geremd waren. Ook de gevoeligheid van de perifere hartvagus werd niet beïnvloed door deze stof. Ook heeft D.F.P. geen invloed op de reflexen van de sinus caroticus. Volgens deze onderzoeken zou het D.F.P. terwijl het toch het cholinesterase totaal remt, niet de centrale en perifere prikkeloverdracht beïnvloeden.

Hierdoor twijfelden zij aan de rol, die de cholinesterasen spelen bij de prikkeloverdracht.

Tot nu toe schreven we de verschillende pharmacologische werkingen van prostigmine en eserine toe aan de anticholinesterase werking. Prostigmine en eserine hebben echter ook een muscarine en nicotine effect.

Daar D.F.P. sterk het cholinesterase remt, hebben zij de invloed van prostigmine en eserine op verschillende physiologische functies nagegaan na van te voren D.F.P. gegeven te hebben. Hierbij bleek dat prostigmine of eserine dan nog een zeer sterke bradycardie doet ontstaan, evenals een vermeerdering van de perifere prikkelbaarheid van de hartvagus en een grotere gevoeligheid voor acetylcholine.

De bradycardie opgewekt door prostigmine en eserine, evenals de sterkere gevoeligheid van de perifere hartvagus zouden dus volgens hen niet verbonden zijn met de anticholinesterase werking van deze stoffen, maar moeten toegeschreven worden aan een andere pharmacologische werking.

Gaven zij een hond, die D.F.P. gehad had en dus een totale remming van zijn cholinesterasen had, een intraveneuse prostigmine injectie, dan zagen zij nog een hyperpneu, bronchusspasme, myosis, en sterke hypersalivatie optreden. Deze pharmacologische werkingen van het prostigmine en eserine zouden dus niet verbonden zijn aan hun anti-cholinesterase activiteit.

Zoals wij reeds gezegd hebben doen deze proeven een ernstige aanslag op de nieuwe prikkeltheorie, die o.a. door N a c h m a n s o h n beschreven werd. H e y m a n s zegt:

1. dat hij met D.F.P. een totale remming veroorzaakte van het cholinesterasegehalte van de hersenen, rode bloedlichaampjes en plasma, die echter na 14 dagen weer normaal geworden was. Hiertegenover zij de volgende waarneming vermeld.

Harvey, Grob, Lilienthal en Jones (87) stelden mensen bloot een D.F.P. en zagen dat, daar D.F.P. het cholinesterase irreversibel vernietigde, ze weer een stijging van de cholinesterase-activiteit kregen van de erythrocyten die echter lineaair 1% per dag van de controle liep. Er waren dus ± 100 dagen nodig om de totale cholinesterase-activiteit van de erythrocyten te herstellen. H e y m a n s zag reeds na 14 dagen 100% activiteit van de cholinesterase. Dit is wel een van de redenen om te twijfelen of zij ook het specifiek cholinesterase remden. Hun D.F.P. was dus waarschijnlijk niet erg werkzaam meer, daar zij met hun geweldige

dosis D.F.P. toch zeker het cholinesterase in de erythrocyten moesten remmen. Daarom hebben zij waarschijnlijk alleen maar het pseudo-cholinesterase geremd. Uit onderzoekingen van Hawkins en Gunter (5, 23, 105) bleek, dat D.F.P. in kleine dosis reeds exclusief het pseudo-cholinesterase remt. Het specifiek cholinesterase (hersenen en erythrocyten) wordt pas bij veel hogere D.F.P. concentraties geremd.

2. Volgens een persoonlijke mededeling van Mendel is de door Heymans toegepaste micro-potentiometrische methode van Delaunois en Casier (20) niet zo betrouwbaar.

3. Ze gebruikten geen specifieke substraten. Zoals we later in hoofdstuk III zullen zien, moeten we om het specifieke en het pseudo-cholinesterase te bepalen mecholyt, respectievelijk benzoyl choline gebruiken. Deze substraten worden n.l. alleen maar door het specifieke-respectievelijk het pseudo-cholinesterase gehydrolyseerd.

4. De reeds genoemde onderzoekers Harvey, Grob, Lilienthal en Jones (87) zagen reeds bij mensen met een dosis D.F.P. 2-3 mgr. per kg lichaamsgewicht, dus in verhouding tot de honden van Heymans een veel geringere dosis, reeds symptomen optreden van een acetylcholine vergiftiging. Deze hadden de bekende verschijnselen als verhoogde activiteit van het maagdarmkanaal, slapte, fasciculaire contracties van de skeletspieren en veel tekenen, die wezen op een verhoogde prikkelbaarheid van het centrale zenuwstelsel. Hypotensie en perifere vasodilatatie zagen ze niet optreden.

5. Quilliam en Strong (107) onderzochten in 1947 de werking van D.F.P. op het zoogdierhart en vonden een langdurig eserine effect, dat snel volledig optrad en bleef. Na D.F.P. geeft eserine geen stijging in de gevoeligheid voor acetylcholine, terwijl Heymans juist een vermeerderde gevoeligheid voor eserine zag optreden na D.F.P. toediening.

6. Nachmansohn (115) toonde aan, dat konijnen in een paar minuten stierven na een injectie van D.F.P. (1 mgr. per kg lichaamsgewicht).

Het hersenweefsel van deze dieren heeft dan totaal geen cholinesterase activiteit meer.

Spoort hij 3/10 mgr. D.F.P. per kilo lichaamsgewicht in, dan stierven sommige konijnen, anderen daarentegen bleven leven. Bij de eersten werd geen of practisch geen cholinesterase meer in de hersenen gevonden. Bij de konijnen, die bleven leven bleek de cholinesterase-activiteit $\frac{1}{10}$ 25% van de initiale waarde te zijn.

Met deze experimenten blijkt weer, dat de cholinesterase-activiteit van de hersenen wel belangrijk geremd kan worden zonder de dood tengevolge te hebben. Wordt deze echter voor meer dan 75% geremd, dan was bij deze cholinesterase-activiteit geen leven meer mogelijk.

Eveneens dus weer een bewijs voor de ondeugdelijkheid van de D.F.P. van Heymans en dus weer een argument voor de juistheid van de in hoofdstuk I beschreven prikkeltheorie in verband met de cholinesterase-activiteit.

7. Mendel en Hawkins (5, 105) zagen verschijnselen van acetylcholinevergiftiging optreden met D.F.P. bij konijnen als de cholinesterase-activiteit van het plasma (bevat haast alleen specifiek cholinesterase) ten opzichte van acetylcholine van 80—82% geremd was.

Bij het schaap (5) (dit plasma bevat alleen specifiek cholinesterase) traden deze verschijnselen op bij een minder sterke remming van de acetylcholine-hydrolyse. Het bleek, dat hoe hoger de verhouding van de specifieke cholinesterase-activiteit ten opzichte van de pseudo cholinesterase-activiteit was, des te minder sterk behoefde de remming van het acetylcholine te zijn, voordat symptomen van acetylcholine-vergiftiging optraden.

Hawkins en Gunter zagen deze symptomen bij honden optreden als de specifieke cholinesterase-activiteit van hun plasma 77% gezakt was.

Koelle en Gilman zagen bij ratten ditzelfde als het specifieke cholinesterase in hun plasma 73% en in de hersenen 72—79% was gezakt.

Di-iso-propyl-fluoro-phosfaat geeft dus pas symptomen van acetylcholine vergiftiging, als het specifieke cholinesterase zeer sterk geremd is.

Mendel meende dan ook, dat het D.F.P. van Heymans door de overtocht over de oceaan veel in werkzaamheid had ingeboet.

Hij remde zodoende alleen het pseudo-cholinesterase voldoende sterk, zodat zijn waarnemingen niet aan de prikkeltheorie afbreuk doen.

Alvorens dit hoofdstuk te besluiten, moet ik nog even mededelen waar het specifieke en pseudo-cholinesterase in voorkomen. (Voor het verschil tussen het specifieke en pseudo-cholinesterase zie hoofdstuk III).

Het ware specifiek cholinesterase komt voor in het bloed van vele dieren, het bloed van enige species bevat geen pseudo-cholinesterase (os en schaap) (24, 25, 26, 27, 28, 30, 35, 47); bij de mens en de meeste dieren zit het specifieke cholinesterase hoofdzakelijk in de rode bloedcellen; het plasma bevat minder van dit enzym ($\pm 1\%$ van de gehele activiteit van het mensenplasma wordt veroorzaakt door het specifieke cholinesterase, Mendel) (5).

Het weinig specifieke cholinesterase in de rode bloedlichaampjes van zekere dieren (kat en vogel) wordt gecompenseerd door een grotere hoeveelheid specif. cholinesterase in het plasma. Het constant aanwezig zijn van het specif. cholinesterase in het bloed doet veronderstellen, dat dit enzym een essentieel deel uitmaakt van de bloedstroom. Daar het specif. cholinesterase het best werkt bij lage acetylcholine concentraties, speelt dit zeer waarschijnlijk de hoofdrol bij het regelen van de hoeveelheid acetylcholine in de circulatie. Pseudo-cholinesterase, dat afwezig is in het bloed van zekere dieren, is blijkbaar niet nodig in dit opzicht. Bovendien kan het slechts een kleinere rol spelen in het controleren van de acetylcholine concentratie in het bloed, daar het niet efficiënt lage concentraties van dit substraat kan hydrolyseren.

Volgens Langeman (29) komt in de skeletspieren, thymus van zeer jonge kinderen, hersenen en hypophyse, alleen het specif. cholinesterase voor, in het ovarium alleen het niet-specifieke cholinesterase. De thymus van oudere kinderen en het hart bevatten beide enzymen.

De perifere zenuwen (42) van rat en hond bevatten beide enzymen, terwijl de hersenen alleen het specifieke bevatten (E. J. Boell) (33, 47).

De differentie van het zenuwstelsel in het zich ontwikkelende embryo van de gevleete salamander, geeft een vermeerderde specif. cholinesterase concentratie in de zenuwweefsels.

Aan Nachmansohn (39, 46), Martini (34, 7), Torda, Cou-teau, Meyerhof en Hoff, ontleen we de volgende tabel:

HERSENEN

De hoogste waarde vinden wij steeds in die gebieden, waar de meeste synapsen zitten.

Hersen cholinesterase activiteit, uitgedrukt in milligram acetylcholine, die door 100 mgr fijn verdeeld hersenweefsel van de mens in 1 uur gehydrolyseerd worden:

Cortex	1,2
Thalamus	2,7
Ruggemerg	6—9
Putamen	46
Cerebellum	8,2
Corp. quadrigem.	3,7—5,9
Nucleus caudatus	30

Hellauer (40, 38) toonde aan, dat in de cholinergische organen acetylcholine en cholinesterase in verhoudingen van dezelfde orde van grootte voorkomen, terwijl adrenergische organen veel cholinesterase en weinig acetylcholine bevatten.

De witte stof bevat minder cholinesterase dan de grijze stof (49a). In de liquor cerebro-spinalis zit ook weer cholinesterase (Altenburger).

Nachmansohn (45, 60) deed onderzoekingen over de borstspier van het kuikentje bij het bebroeden. Hij vond het gehalte aan specif. cholinesterase het hoogste in de borstspier, als de verhouding motorische eindplaten : spierweefsels het grootst was. Hieruit blijkt, dat de motorische eindplaatjes zeer veel cholinesterase bevatten.

In 1944 onderzochten S. Thompson en Whittaker (61) de mensenhuid op zijn enzymgehalte. Zij vonden 'n specifiek cholinesterase en 'n ali-esterase (dat ook tributyrine en methylbutyraat hydrolyseerde). Dit cholinesterase blijft constant met de leeftijd, terwijl het ali-esterase stijgt met de leeftijd.

Anfinsen (66) onderzocht de retina en vond het specif. cholinesterase hoofdzakelijk in de synapsen.

Het pseudo-cholinesterase komt vooral in het serum voor en in veel organen, als pancreas, lever, hart, etc., echter niet in de hersenen. Het specifieke cholinesterase is hoog in motorische vezels, middelmatig hoog in gemengde vezels en laag in sensorische vezels. Het pseudo cholinesterase gehalte is nu laag in de motorische vezels, middelmatig in de gemengde vezels en hoog in de sensorische vezels.

A

In de sympathische ganglia (64), waar acetylcholine bij prikkeling vrij komt, is het specifieke cholinesterase hoog.

Het sensorische ganglion en ook 't glomus caroticum hebben relatief hetzelfde gehalte aan specifieke als pseudo cholinesterase als de perifere sensorische vezels zelf. Ook in de dorsale wortels is het cholinesterase gehalte gering (22).

HOOFDSTUK II

De Pharmacologie der esterasen:

Aangezien bij onze metingen gebruik moet worden gemaakt van de gegevens van de pharmacologie van de cholinesterase-vergiftiging, volgt een kort overzicht over hetgeen hierover bekend is.

Voordat we spreken over de pharmacologie van het acetylcholine, zij hier nog even kort medegedeeld, dat er cholinergische en adrenergische zenuwen bestaan (113).

Onder cholinergische zenuwen verstaan we die zenuwen, aan wier uiteinde bij prikkeling acetylcholine vrij komt. (Zie vorig hoofdstuk). Dit zijn:

1. De parasympathische postganglionaire vezels.
2. De sympathische post-ganglionaire vezels van zweetklieren en uterus.
3. De sympathische praeganglionaire vezels.
4. De parasympathische praeganglionaire vezels en de sympathische post-ganglionaire vezels, die vasodilatatie veroorzaken.

Adrenergische zenuwen geven bij prikkeling adrenaline aan hun uiteinde vrij. Dit zijn: sympathische postganglionaire vezels voor het hart, darmen, etc. en de sympathische post-ganglionaire vezels, die vasoconstrictie veroorzaken.

Acetylcholine heeft een muscarine- en een nicotine-effect. Het muscarine-effect is vooral duidelijk geworden uit de remming van het cholinesterase. Hierdoor is het n.l. alleen aan te tonen.

Reeds O. Loewi vond dit effect in de doorstromingsvloeistof van zijn hart na prikkeling, mits hij er voor zorgde, dat er kleine hoeveelheden eserine in aanwezig waren. Het muscarine-effect zien we gewoonlijk optreden na prikkeling van de parasympathische zenuwen. Door atropine wordt deze werking opgeheven.

Dit effect uit zich in een verlangzaming van de hartactie, in speeksel- en tranenvloed, in verhoogde gal-, pancreas-, zweet- en slijmsecretie. Het geeft een contractie van de pupil en veroorzaakt een sterke peristaltiek van het maagdarmkanaal etc.

Het nicotine-effect van acetylcholine, dat vooral duidelijk wordt na atropine, heeft een prikkelende werking op de ganglioncellen, op de spieren van de wand van de lichaamsholte van de bloedzuiger, op de willekeurige spieren van de kikker en op de gedenerveerde spieren van de zoogdieren. Deze effecten van acetylcholine lijken op die van nicotine, en worden daarom nicotine-effecten genoemd. Deze werking wordt opgeheven door een grote dosis nicotine en curarine. De gang van zaken bij een prikkel is nu als volgt:

De prikkel bereikt de praeganglionaire vezels en maakt acetylcholine vrij, dat dan door zijn nicotine-achtige werking de ganglioncellen stimuleert. De impuls gaat dan langs de post-ganglionaire vezels en doet hier adrenaline ontstaan.

Het acetylcholine, dat steeds ontstaat, wordt nu door het cholinesterase onwerkzaam gemaakt.

Bij de remming van het cholinesterase krijgen we dus een ophoping van acetylcholine: de cholinesterase vergiftiging.

Zoals wel duidelijk geworden is uit het hoofdstuk over de humorale prikkeloverdracht, moeten er beslist stoffen zijn, die het systeem acetylcholine — cholinesterase remmen.

Als de oudst bekende remmer, moet hier genoemd worden het prostigmine. Voordat we hier verder op ingaan wijzen we even op het onderzoek van Schweizer, Stedman en Wright (49). Volgens genoemde onderzoekers moeten we bij de anticholinesterasen, d.w.z. de ammoniumbasen een onderscheid maken of deze tertiair of quaternair zijn. De tertiaire ammoniumbasen als eserine zouden in het lipoid van de celmembranen kunnen binnendringen en zodoende een centraal prikkelende werking geven. De quaternaire ammoniumbasen daarentegen zoals prostigmine zijn niet oplosbaar in lipoiden en zouden daardoor niet in de cel kunnen binnendringen, en aldus een meer narcotische werking ten toon spreiden.

Het prostigmine is wel een van de sterkste remmers (125, 50), zowel van de pseudo- als van het specifieke cholinesterase. Het is evenals het acetylcholine de carbonzure ester van 'n gehydroxyleerde quaternaire ammonium base.



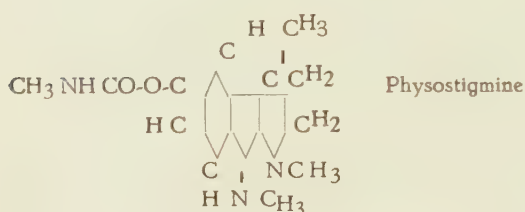
Het prostigmine (50) bezit in de acyl-oxy-groep en in de quaternaire ammoniumgroep het zelfde aangrijpingspunt, dat ook voor de binding en splitsing van acetylcholine aan het specifieke proteïne van het cholinesterase van buitengemeen belang zijn. Deze specifieke binding wordt door de phenylrest bevorderd. De adsorptiemogelijkheid van organische verbindingen aan het biologisch substraat wordt er door versterkt. Er kan zo zelfs een passagère blokkering van het ferment optreden. Prostigmine geeft zo in kleine dosering het phenomeen substraatremming, die ook optreedt als 'n kleine hoeveelheid cholinesterase bij een zeer grote hoeveelheid acetylcholine komt. Deze substraatremming wordt nog verder door de acyl-oxy-groep in het prostigmine begunstigd, welke groep door verestering van de phenol-hydroxyl met dimethyl-carbaminezuur ontstaat. Deze ester biedt de hydrolyse in een veel sterkere mate het hoofd dan de gemakkelijk te splitsen acyl-oxy-groep van het acetylcholine, dat uit een verestering van een alcohol hydroxyl ontstaan is.

De remming van prostigmine is reversibel (26), zoals door Matthes bevestigd is. Door dialyse wordt het ferment weer werkzaam.

Door Ammon werd in vitro de intensiteit van de remming door physostigmine nagegaan (53, 54, 59). Physostigmine heeft maar een urethaangroep.

Volgens de onderzoeken van Keeser (58) remt prostigmine Roche twee maal zo sterk het cholinesterase als physostigmine. De remmende werking van physostigmine ligt n.l. aan de methyl-urethaan zijketen (52). Halen we de urethaangroep van prostigmine respectievelijk physostigmine er af, dan krijgen we stoffen met een geringe anticholinesterase werking. Prostigmine werkt op de curare-verlamming van de willekeurige spieren antagonistisch. Er werd nu een algemeen parallelisme gevonden tussen de mate van het curare-antagonisme en de remming van het specifieke cholinesterase (108).

De structuur van andere sterke remmers als methyleenblauw doet vermoeden, dat de N-methylgroep essentieel is voor de remmende eigenschappen. Behalve de stikstof-methylgroep in de methyl-urethaan zijketen, heeft physostigmine nog twee andere stikstof methylgroepen in zijn indol- en pyrrolidine ringen.



Dragen deze twee stikstof methylgroepen nog bij aan de werking van deze stof. De stikstof-methylindolgroep is erg belangrijk, omdat hierdoor de physostigmine structuur verwant is met adrenochroom, een stikstof-methylindol, dat een oxydatieproduct van adrenaline zou zijn. De werking van indol, stikstof-methylindol en oxydatieproducten van adrenaline (adrenaline heeft ook een stikstof methylgroep) werd door Waelsch en Rackow (67) nagegaan. Physostigmine in 10—6 M concentratie geeft evenals indol in dezelfde concentratie 50% remming. Stikstof-methylindol is minstens tweemaal zo actief als indol.

De oxydatieproducten van adrenaline verschillen in hun werking op het cholinesterase aanvankelijk van het type van oxydatie, waaraan ze blootgesteld waren en van de Ph waarbij de oxydatie werd uitgevoerd.

Een andere belangrijke cholinesterase is het eserine.

Ook eserine heeft evenals prostigmine een urethaangroep, verwijderen we van eserine de urethaangroep, dan krijgen wij het eseroline, dat een veel zwakkere cholinesterase werking heeft.

Door Payot (68) werd de remmende werking van enige antihistaminica en anaesthetica op de beide cholinesterasen (erythrocyten en serum) nagegaan, n.l. antistin en antergan. Beide stoffen remmen zowel het specifieke als het pseudo-cholinesterase. Antistin remt sterker dan antergan. De remming hangt af van de substraatconcentratie. Bij een grotere substraatconcentratie zien we n.l. minder remming optreden. Deze stoffen competeren met het substraat en het enzym wat ook het geval is bij prostigmine. Privin en

priscool remmen ook sterk. De imidazolgroep is van zeer grote betekenis. Antergan, die deze groep mist, remt minder. Andere zeer sterke remmers zijn de oorlogsgassen: het di-iso-propyl-fluoro-phosphaat (D.F.P.) (5, 87, 106, 107, 109, 110, 111, 112, 105) en tetra-aethyl-pyrophosphaat (T.E.P.) (114).

Er bestaat een steeds duidelijker wordend bewijs voor het vermoeden, dat de sterke biologische effecten van stoffen in lage concentratie te wijten zijn aan een inwerking op de enzymen.

Toen het nodig werd om zekere toxische stoffen te onderzoeken, die als oorlogsgassen gebruikt zouden kunnen worden, vermoeden Peters, Dixon en Neetham, dat de werking van deze stoffen waarschijnlijk aan een storend effect op de enzymen was toe te schrijven.

D.F.P. is wel een van de sterkste en meest specifieke remmers (5). In zeer lage concentratie tast het alleen het pseudo-cholinesterase aan. In iets hogere concentratie wordt ook het specifieke cholinesterase geremd. De werking ervan treedt al op bij een concentratie van 1×10^{-10} M. Ofschoon 20 enzymsystemen werden bestudeerd, werden alleen de esterasen er door geremd.

De toxische symptomen van de dieren, die er aan bloot gesteld waren, lieten zien dat het D.F.P. het centrale zenuwstelsel attaqueerde. Het D.F.P. inactieveert het cholinesterase irreversibel.

Een treffend parallelisme werd gevonden bij zenuwen, die aan D.F.P. (115) blootgesteld waren, tussen de progressieve irreversibele vernietiging van het cholinesterase en de opheffing van de geleiding. Daar bij een opheffing van de geleiding in de zenuwen geen leven meer mogelijk is, werd vermoed, dat de sterke toxiciteit van D.F.P. in vivo veroorzaakt werd door het effect op cholinesterase. Uit konijnenproeven is dit ook wel gebleken. De konijnen, die na inspuiting met D.F.P. stierven, hadden practisch geen cholinesterase-activiteit van hun hersenen meer. De konijnen, die met dezelfde dosis D.F.P. bleven leven, hadden nog maar $\pm 25\%$ van hun hersencholinesterase over.

Ook blokkeert D.F.P. de synapsen bij een lagere concentratie, dan de axons met hun lipoidmembraam. Dit verklaart ook, dat men soms nog een vrij hoge cholinesterase-concentratie bij dierenhersenen kan vinden, die na de inspuiting met D.F.P. gestorven zijn.

Sommige levensgewichtige centra zijn ook nog gemakkelijker te bereiken voor het D.F.P. De waarden, die opgegeven worden, zijn de gemiddelde waarden voor de totale hersenen.

De laatste tijd heeft men nog een ander oorlogsgas op zijn anti-cholinesterase activiteit onderzocht en wel het TeTraethyl-Pyrophosphaat (114) (Tep). Men heeft namelijk gezien, dat het meten van de bloeddrukstijging na acetylcholine bij ge-atropiniseerde honden met een anti-cholinesterase een zeer betrouwbare maatstaf is voor de anti-cholinesterase activiteit van een stof in vivo.

Door atropine was het muscarine-effect van het acetylcholine uitgeschakeld, zodat alleen maar het nicotine-effect over bleef. Dit laatste effect kan gemeten worden in de bloeddrukstijging, indien we er tenminste een anti-cholinesterase bij doen, daar het toegediende acetylcholine anders direct onwerkzaam gemaakt zou worden. Deze in vivo methode scheen

zelfs gevoeliger dan de methodiek in vitro, daar de remming in vivo met kleinere concentraties werd verkregen dan in vitro. Uit dit onderzoek bleek, dat Tep een 2—3 zo sterke werking had dan het H.E.T.P. (het hexaethyl-tetra-phosphaat eveneens een oorlogsgas) en het eserine. Het was zelfs 10—15 maal werkzamer dan het D.F.P. Deze oorlogsgassen (D.F.P., Tep en H.E.T.P.) zijn ook te gebruiken ter onderscheid van de specifieke- en pseudo-cholinesterasen. Mendel, Hawkins en Gunter (5) toonden aan, dat in lage concentratie het D.F.P. exclusief het pseudo-cholinesterase remt en pas in hogere concentratie het specifieke esterase.

Voor de volledigheid volgen de andere remmers en de activatoren van het pseudo- respectievelijk het specifieke cholinesterase in een tabel.

REMMERS DER CHOLINESTERASEN

(57, 51, 55, 19, 56)

Stof	Remming	Activatie	pseudo	specif.
Eserine	+	—	+	+
Prostigmine	+	—	+	+
tert. amm. basen (49)	+	—	+	+
quaternaire amm. basen	+	—	+	+
Physostigmine	+	—	+	+
Methyleen blauw	+	—	+	?
Antistin (68)	+	—	+	+
Antergan	+	—	+	+
Privin	+	—	+	+
Priscol	+	—	+	+
Agmadin	+	—	+	—
Histamine (69)	+	—	+	—
Diocaïne	+	—	+++	+++
Holocaïne	+	—	+++	+++
Percaïne (71)	+	—	+++	+
Pathesin	+	—	+++	+
Pantocaïne (68, 70)	+	—	+++	+
Cocaïne	+	—	++	+
Morphine (90, 93, 92)	+	—	+	+
Curare (72)	+	—	+	—
Ergotamine (19)	+	—	+	?
Ergobasine	+	—	+	?
Benzylalcohol	+	—	+	?
Saligenine	+	—	+	?
Atropine	+	—	+	?
Strychnine (83)	+	—	+	+
Veratrine	+	—	+	+
Strophantine (73)	+	—	?	?
Pilocarpine (58, 19)	+	—	+	?
P. amino-benzoezuur	+	—	+	?
Sulfanilamide	+	—	+	?
Sympathol	+	+?	+?	?
Racedrine	+	—	+	?
Pervitine	+	—	+	?
Veritol	+	—	+	?
Hexeton	+	—	+	?
Cardiazol	+	—	+	?
Coramine	+	—	+	?

Stof	Remming	Activatie	pseudo	specif.
Aneurine	+	—	+	?
Nicotinezuuramide	+	—	+	?
Codeïne, eukodal (75)	+	—	+	—
Joodazijnzuur	+	—	+	?
Malleïnezuur	+	—	+	?
Alloxaan	+	—	—	?
Glutathion	+	+	+	?
Fluoriet	+	—	+	?
Oxalaat	+	—	—	?
Citraat	+	—	—	?
Arseniet	+	—	+	?
Pyrophosfaat	+	—	—	?
Atoxyl	+	—	+	?
K. C. N.	—	—	—	?
Galzuren	+	—	+	?
Diphterie (74) toxine	+	—	+	?
tetanus toxine	+	—	+	?
Vit. C. (81)	+	—	+	?
Methyl. aethylalcohol 0.50%	+	—	+	?
Chloraathydraat	+	—	+	?
Aether (76)	+	—	+	?
Chloroform (76)	+	—	+	?
Coffeine	+	—	?	+
Paraldehyde	+	—	+	?
Phenal	+	—	+	?
Nacl	+	—	+	?
Theobromine (78)	+	—	?	?
Chinine	—	—	+	+
Chinidine zwak	—	—	+	+
Atebrine (78)	—	—	+	—
Nicotine (79)	—	—	+	+
Lood (80)	—	—	+	?
Broom	—	—	+	?
Kwiksilver	—	—	—	?
Goud	—	—	+	?
Lithium	—	—	+	?
Arseen	—	—	+	?
Antimoon	—	—	+	?
IJzer (82)	—	—	+	?
Barium	—	—	+	?
Koper	—	—	—	?

Stof	Remming	Activatie	pseudo	specif.
Jodium	—	—	+	?
Kalium	—	—	+	?
Zink	—	—	+	?
Aluminium	+	—	+	?
Boraten	+	—	+	?
Hypophosphieten	+	—	+	?
Natrium	—	—	—	?
Nikkel	—	—	—	?
Mangaan	—	—	—	?
Nitraat	—	—	—	?
Phosphaat	—	—	—	?
Vit. B ₁ (84, 103, 52)	+	—	+	?
Cholesterine	+	—	+	?
Barbituurzuur-	—	—	—	—
derivaten (85, 86, 100, 102)	—	—	—	—
Nu 683 (23)	+	—	++	—
D.F.P. (84)	+	—	+++	+
Triorthokresylphosphaat (88)	+	—	+++	+
Ca (89)	—	+	+	+
Mg	—	+	+	+
Hyposulfiet van ca, Mg, Na	—	+	+	?
Magnesium chloride	—	+	+	?
Ammonium chloride	—	+	+	?
Ureum (51)	—	+	?	?
Alcohol (0,25%) (90, 93, 52)	—	+	+	?
Pilocarpine (58)	—	+	+	?
Thyroxine (91, 92)	—	+	++?	?
Aminozuren (116)	—	+	+	?
Glycocol	—	+	+	?
Alanine	—	+	+	?
Proline	—	+	+	?
Arginine	—	+	+	?
Lysine	—	+	+	?
Histidine (80, 96).	—	+	+	?
Cysteine (95)	—	—	—	?
Tryptophaan	—	—	—	?

HOOFDSTUK III

Gezien we reeds vaak over de pseudo- en specifieke cholinesterasen spraken, volgen hier eerst de bewijzen, dat in de hersenen en rode bloedlichaampjes alleen het specifieke cholinesterase aanwezig is, terwijl in het serum practisch alleen maar een pseudo-cholinesterase voorkomt. Tevens wordt hierna even gewezen op het verschil in werking der beide esterasen en de argumenten, dat het pseudo-cholinesterase geen essentiële rol speelt bij de prikkelloverdracht.

Er bestaan 2 esterasen in het dier, die acetylcholine kunnen hydrolyseren (4a, 36, 37, 41, 32, 38):

1. het specifieke cholinesterase (dat in de rode bloedlichaampjes en de hersenen hoofdzakelijk aanwezig is) d.w.z., dat uitsluitend werkt op de choline-esters.

2. Een niet specifiek, het z.g. pseudo-cholinesterase (dat in mensen- en paarden serum en in honden pancreas b.v. aanwezig is), dat niet alleen choline-esters, maar ook een variëteit van niet choline-esters (methylbutyraat, tributyrine, tripropionine) evengoed hydrolyseert.

I. Een bewijs voor de niet specificiteit van het enzym uit honden-pancreas en mensen serum kunnen we halen uit het feit, dat het specifieke cholinesterase alleen choline-esters splitst, terwijl door het pseudo-cholinesterase zowel de choline- als de niet choline-esters gehydrolyseerd worden. Zoals we later bij de methodiek zullen zien, nemen wij als maatstaf voor cholinesterase-activiteit de hoeveelheid CO_2 , die vrij komt door het aazijnzuur, dat bij de hydrolytische splitsing van het substraat gevormd wordt, in te laten werken op een natrium bicarbonaat oplossing.

Stellen wij nu het volgende quotiënt op
$$\frac{\text{Q. ach.}}{\text{Q. niet ach.}}$$

„Q. ach” is hoeveelheid CO_2 , die vrijkomt bij de hydrolyse van acetylcholine door het cholinesterase; „Q. niet ach.” wil zeggen de hoeveelheid CO_2 , die vrijkomt door de hydrolytische splitsing van de niet choline-esters door het cholinesterase. Zit er nu in weefselextract of serum slechts één enzyme, dat dus de choline- en niet choline-esters evengoed splitst, dan zal bij voortgaande reiniging van dit extract of serum, het quotiënt steeds constant blijven. Is er meer dan een enzym in aanwezig, d.w.z. een enzym dat de choline-esters en een enzym, dat de niet choline-esters splitst, dan zal bij verdere zuivering van het praeparaat, vooral als we dit reinigingsproces lang voortzetten, het quotiënt zeker niet constant blijven. Het ene enzym zal gemakkelijker of moeilijker gereinigd worden dan het andere. Als wij nu komen tot een zo ver gevorderde zuivering, dat de activiteit van het cholinesterase 2000 maal zo sterk geworden is, vinden wij toch steeds een constant quotiënt. Een sterk bewijs dus, dat er in het serum maar één cholinesterase aanwezig is, dat zowel choline- als niet choline-esters kan splitsen. Zo'n ferment is dus niet specifiek voor de choline-esters, vandaar dat we dit ferment een pseudo-cholinesterase noemen.

II. Het volgende experiment verifiëert de hypothese, dat in hondenpancreas en mensenserum een niet specifiek esterase aanwezig is.

Kleine hoeveelheden eserine remmen practisch even sterk de choline- als de niet-choline-ester hydrolyse in onze gezuiverde preparaten, waaruit blijkt, dat er maar één cholinesterase voorkomt in mensenserum of hondenpancreas, dat niet specifiek is.

III. Nog een derde zwak bewijs hiervoor kunnen wij halen uit de werking van het serum op gemengde substraten.

Laten wij namelijk het serum, dat twee enzymen zou bevatten en dat substraat A en B respectievelijk zou kunnen hydrolyseren, dan is additie mogelijk (Easson en Stedman 1937) mits wij er voor zorgen, dat de substraatconcentratie optimaal is en dat substraat A niet de hydrolyse remt van substraat B en omgekeerd; dit laatste punt werd reeds gevonden door Stedman (1935) die vond, dat choline-esters de hydrolyse van tributyrine niet apprecieëbaar remden.

Als wij onze gezuiverde praeparaten, waaruit het ali-esterase verwijderd is, laten inwerken op een mengsel van twee substraten (choline ester - acetylcholine - en een niet-choline ester - tributyrine -) zien wij geen additieëffect, (Mendel en H. Rudney).

Dit stemt overeen met ons vermoeden, dat, hydrolyse van choline-esters in serum en andere weefsels geschiedt door een enzym, dat ook niet-choline-esters kan hydrolyseren.

I. Het specifieke of ware cholinesterase.

In rode bloedlichaampjes en hersenweefsel van verschillende dieren is een specifiek cholinesterase aanwezig, dat uitsluitend op choline-esters werkt. Door een eenvoudige zuivering van de rode bloedlichaampjes krijgen wij een verhoogde activiteit t.o.v. acetylcholine, terwijl deze volledig inactief wordt ten opzichte van tributyrine en methylbutyraat (ongezuiverde erythrocyten bevatten namelijk behalve het ware cholinesterase nog een ali-esterase, dat op de aliphatische esters en glyceriden werkt en een lipase B. Glasson) (65).

Ook in hersenweefsel komt een specifiek cholinesterase voor. Om aan te tonen, dat er een specifiek enzym in de hersenen aanwezig is, kunnen wij weer

1. de hersenen-cholinesterase sterk zuiveren;
2. remmen met eserine;
3. het op verschillende substraten laten inwerken.

ad 1. Hersencholinesterase laat zich niet gemakkelijk zuiveren en is tot nu toe nog niet gescheiden van de andere ali-esterase.

ad 2. Het effect van eserine op choline- en niet-choline esterhydrolyse door hersenweefsel. De hoeveelheid eserine, die haast totaal de hydrolyse van acetylcholine remt, heeft practisch geen effect op de hydrolyse van tributyrine, dat ook door hersenweefsel gehydrolyseerd wordt evenals het tripropionine. (Het methylbutyraat wordt er niet door gesplitst).

De concentratie van eserine moet meer dan honderdmaal zo sterk zijn, willen wij enige remming zien.

Als een enzym verantwoordelijk was voor de hydrolyse van acetylcholine en tributyrine, zoals het geval was bij de proeven met de gezuiverde enzympraeparaten van serum en pancreas, zou een kleine hoeveelheid eserine de hydrolyse van beide esters even sterk remmen. Het feit, dat een concentratie van eserine, die totaal de hydrolyse van acetylcholine remt, een gering of geen effect heeft op de hydrolyse van niet choline-esters, is een sterk argument voor de specificiteit van het hersencholinesterase.

Uit de actie van hersenweefsel op gemengde substraten blijkt dit nog duidelijker:

ad 3. Laten wij namelijk een suspensie van hersenweefsel op acetylcholine en tributyrine (niet choline-ester) inwerken, dan blijkt de hydrolytische werking van het hersenweefsel precies de som te zijn van de werking op de gescheiden substraten (acetylcholine en tributyrine).

Als er een pseudo-cholinesterase in het hersenweefsel aanwezig zou zijn — d.w.z. een enzym, dat beide substraten kan hydrolyseren — dan zou de activiteit van het hersenweefsel op het substraatmengsel kleiner moeten zijn, dan de som van de hydrolyse, die wij krijgen, als wij de substraten er gescheiden bijvoegen (Mendel en Rudney).

Het ene enzym zou dan, daar het 2 substraten tegelijk moet splitsen, niet zo'n grote werkzaamheid kunnen ontplooiën.

Het feit, dat er een complete additie van de activiteiten plaats vindt, onthult de tegenwoordigheid van ten minste twee enzymen, die duidelijk esters hydrolyseren en sluit het bestaan van een pseudo-cholinesterase in het hersenweefsel uit.

Het Pseudo-cholinesterase (23).

Mendel en Rudney noemden het niet-specifieke cholinesterase pseudo-cholinesterase, omdat zij er aan twijfelden, of dit enzym een essentiële rol speelt in de acetylcholine-hydrolyse in vivo. Deze veronderstelling heeft steun gekregen in recente proeven:

A. Het niet-specifieke cholinesterase is afwezig in het hersenweefsel van de mens en alle dieren (Mendel en Rudney).

B. Het is niet aanwezig in het bloed en de weefsels van de os en het schaap (Mendel, Rudney en Gunter) (5).

C. Het blijft bestaan in het ganglion cervicale superior van de kat na totale degeneratie van de prae-ganglionaire vezels, terwijl het specifieke cholinesterase onder deze omstandigheden totaal verdwenen is (Sawyer en Hollinshead 1945) (22).

D. Het Nu 683 (23) (het dimethyl carbamaat van (2 hydroxy-5-phenylbenzyl) trimethylammoniumbromide (Hoffman—La Roche) remt bij voldoende dosering voor 95% het pseudo-cholinesterase, zonder het specifieke cholinesterase te beïnvloeden. Er treden dan geen verschijnselen van de acetylcholine-shock op: als intestinale stoornissen, sterke salivatie, en een algemene fibrillatie van de spieren. Door grotere hoeveelheden Nu 683, waardoor het specifieke cholinesterase ook sterk geremd wordt, zien we

pas deze verschijnselen optreden. Atropiniseren we het dier (4,3 mgr subcutaan), dan zien we alleen de fibrillatie optreden, (fibrillatie door de acetylcholine-ophoping veroorzaakt, wordt blijkbaar niet door het atropine opgeheven). Deze resultaten laten zien, dat de effecten, door Nu 683 bij niet-geatropiniseerde dieren, te wijten zijn aan de ophoping van acetylcholine en niet aan een onspecifieke reactie, veroorzaakt door de grote hoeveelheid Nu 683.

E. Di-iso-propyl-fluorophosphonaat remt bij lage concentratie selectief het pseudo-cholinesterase en pas bij hoge concentratie ook het specifieke cholinesterase (Mendelen, R. Hawkins) (5, 105).

Bodansky en Mazur (5) vonden, dat mensen, die blootgesteld waren aan de damp van di-iso-propyl-fluorophosphonaat in lage concentratie (D.F.P. is een oorlogsgas) totaal de activiteit van het pseudo-cholinesterase van hun plasma (plasma bevat $\pm$ alleen pseudo-cholinesterase) verloren, zonder dat ze enige verschijnselen vertoonden. Pas bij hogere concentraties zouden ze verschijnselen van acetylcholine-vergiftiging krijgen (het specifieke cholinesterase van de erythrocyten was dan voor 35% geremd), zoals bij konijnen en schapen werd aangetoond, wanneer ook het specifieke cholinesterase zeer sterk geremd wordt. Het pseudo-cholinesterase is $\pm$ 100 maal zo gevoelig voor de remmende werking van D.F.P. dan het specifieke cholinesterase (al deze proeven moeten geschieden met de specifieke substraten, het acetyl- β -methyl-choline voor het ware en het benzoylcholine voor het pseudo-, daar metingen met acetylcholine als substraat geen inlichtingen kunnen geven over de remming van het pseudo- en het specifieke cholinesterase door D.F.P., daar acetylcholine door beide enzymen gehydrolyseerd wordt en de meeste extracten 'n mengsel van beide enzymen bevatten). Zo werd bij konijnen, wier plasma hoofdzakelijk specifiek cholinesterase bevat, symptomen van acetylcholine-ophoping gezien, als de activiteit van het plasma ten opzichte van acetylcholine voor 80—82% is geremd. Bij het schaap, wiens plasma alleen het specifieke cholinesterase bevat, treden deze verschijnselen nog eerder op. Volgens Gunter (5) en Mendel bezit het lichaam zo'n overmaat aan cholinesterase, dat er pas vergiftigingsverschijnselen optreden, als het specifieke cholinesterase voor 70—80% geremd is. Honden kregen vergiftigingsverschijnselen, als de specif. cholinesterase-activiteit van het plasma voor 77% geremd werd. Koelle en Gilman (1946) zagen lichte parasymphomimetische verschijnselen bij ratten, als de activiteit van het specifieke cholinesterase-gehalte in de hersenen 79—72% was gedaald en bij een daling in het plasma van 73%.

F. Ook de onderzoeken van Heymans en Gent (109, 110, 111) zijn een sterk bewijs voor de dubieuze rol, die het pseudo-cholinesterase in de prikkeloverdracht speelt.

Hij remde immers alleen het pseudo-cholinesterase. Zijn honden vertoonden dan ook geen verschijnselen van acetylcholine-ophoping.

Op prostigmine zag hij dan nog de gewone parasymphomimetische verschijnselen.

Alvorens dit hoofdstuk te besluiten, wil ik nog even iets mededelen over de rol van de cholinesterasen bij zekere dier-experimenten.

Acetylcholine (97) doodt een muis bij een dosering van 250 mgr per kilo lichaamsgewicht (subcutaan).

De dood wordt voorafgegaan door een matheid, afgewisseld met epileptiforme krampen. De ademhaling wordt zwakker, de muis wordt asthmatisch, de conjunctivae worden met een wit slijm bedekt, en de ledematen vertonen fibrillaire contracties.

Blokken we de cholinesterasewerking met 100 y prostigmine per kilo lichaamsgewicht, dan wordt de toxiciteit van acetylcholine 10 maal sterker.

Muizen met 20 mgr atropine per kilo lichaamsgewicht (subcutaan ingespoten) verdragen een 5 maal zo grote dodelijke acetylcholine-dosis.

Geatropiniseerde muizen die bovendien met 100 y prostigmine per kilo lichaamsgewicht zijn ingespoten, sterven al bij een acetylcholine-dosis van 700 mgr per kilo lichaamsgewicht; dus het atropine neutraliseert de werking van prostigmine.

Muizen met twee verbrijzelde poten sterven met 100 mgr acetylcholine per kilo lichaamsgewicht (Het trauma maakt de muizen gevoeliger voor de acetylcholine).

Zijn zij eerst geatropiniseerd, dan sterven zij bij 600 mgr acetylcholine per kilo lichaamsgewicht; dus de fermentremming, veroorzaakt door het trauma heeft de dood ten gevolge, daar de intacte dieren bij dezelfde dosis acetylcholine + 100 y prostigmine ook sterven (E. Frommel en J. Piquet).

De operatie-shock zou door hen gezien worden als een remming van het cholinesterase.

Bij droge (98) en natte kou stijgt het serum-cholinesterase de eerste twee uren, na vier uren daalt het, en wordt pas na enige dagen weer normaal. Sterk afgekoelde muizen zijn zo gevoeliger voor acetylcholine (E. Frommel en J. Piquet).

Volgens dezelfde onderzoekers zou de intraperitoneale novocaïne-toediening de operatie-shock verhinderen op te treden.

Openen we namelijk bij een cavia het peritoneum zonder novocaïne, dan zakt het serum-cholinesterase, doen wij dit met novocaïne intraperitoneaal, dan zakt het praktisch niet (Novocaïne versterkt namelijk het cholinesterase).

Bij de spiershock vermindert morphine en aether een daling van het cholinesterase (pseudo). Bij de shock ontstaan door prikkeling van het peritoneum versterkt morphine en aether deze daling, dit zou verklaard kunnen worden, doordat in het peritoneum, dat rijk aan zenuwvezels is, de remming van het cholinesterase ter plaatse zou kunnen geschieden, terwijl bij de spieren, die maar weinig zenuwvezels bevatten, resorptie en verplaatsing van die „stof” naar het centrale zenuwstelsel nodig zou zijn, om die daling te bewerkstelligen en dit centrale zenuwstelsel wordt nu juist door morphine en aether verdoofd (E. Frommel en J. Piquet) (99).

Verschil tussen het specifieke en het pseudo-cholinesterase wat betreft substraat-concentratie.

Hoe kunnen wij nu de echte- en de pseudo-cholinesterasen scheiden?

De activiteit van het ware en pseudo-cholinesterase hangt af van de substraat-concentratie.

Glick (14,31,32) (1937) en Stedman (13) (1935) vonden, dat de maximale werking van het pseudo-cholinesterase (in mensen- en paardenserum) lag bij concentraties acetylcholine ($+ 1-0,3\%$), die hoger zijn, dan in het bloed verwacht kan worden.

Bij relatief lage acetylcholine-concentraties, toch nog te hoog om er bij te leven geeft het pseudo-cholinesterase slechts een fractie van haar maximale activiteit.

Voegen wij namelijk bijvoorbeeld 300 milligram acetylcholine bij 100 cc paardenserum (38° , Ph 7,4), dan vinden wij, dat de hydrolyse van 3 mgr substraat een kwestie van 20 sec. is (Mendel en Rudney); als wij daarentegen slechts 3 mgr acetylcholine bij 100 cc serum voegen, dan zijn er drie minuten nodig voor de hydrolyse van dezelfde hoeveelheid substraat.

Het specifieke cholinesterase in hersenweefsel en rode bloedcellen is veel effectiever bij lage acetylcholine-concentraties; hoe lager de substraat-concentratie, des te groter is de activiteit van het specifieke cholinesterase.

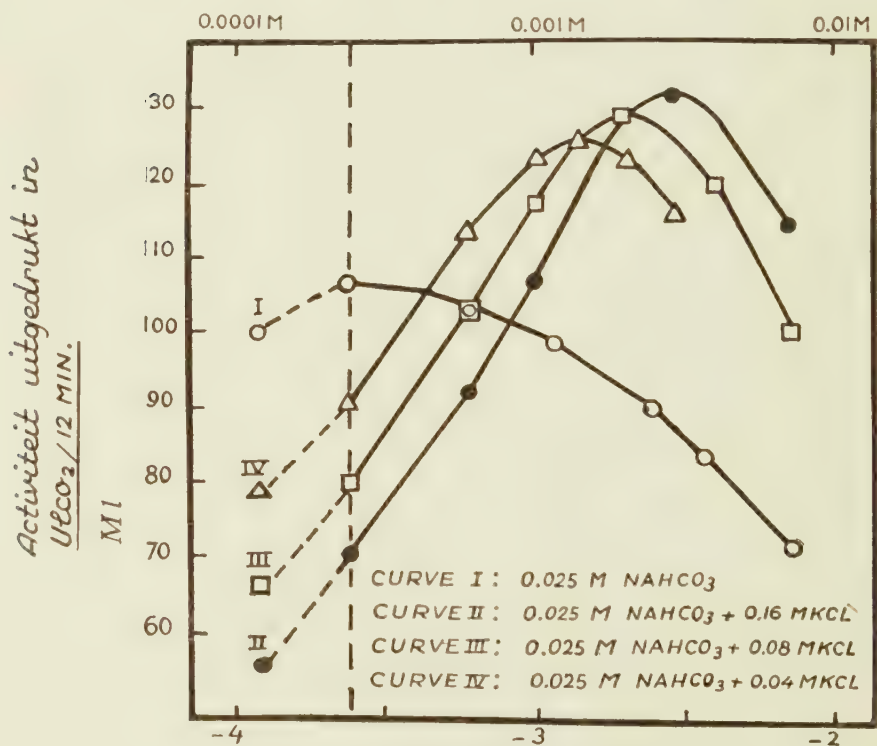
Volgens Alles en Hawes (15) (1940) waren de menselijke rode bloedcellen, die het echte cholinesterase bevatten, voor het grootste deel verantwoordelijk voor de werking van het totale bloed op acetylcholine, mits dit substraat in lage concentratie aanwezig was. Ze vonden ook, dat hoge acetylcholine-concentraties de cholinesterase-activiteit van de erythrocyten remden. Daar het wel juist lijkt, om aan te nemen, dat gewoonlijk lage acetylcholine-concentraties voorkomen in levende organismen, is het het meest waarschijnlijke, dat de destructie van acetylcholine, waar het ook plaats vindt, hoofdzakelijk, zij het niet uitsluitend, gebeurt door het specifieke cholinesterase.

Het niet-specifieke cholinesterase werkt dus het beste bij hoge acetylcholine-concentratie, boven 300 mgr per 100 cc; en slechts zeer weinig bij lage substraatconcentraties. Het omgekeerde is waar voor het specifieke cholinesterase, namelijk bij 'n acetylcholine concentratie kleiner dan 3 mgr per 100 cc.

Dat het specifieke cholinesterase bij een lage en het pseudo-cholinesterase bij een hoge acetylcholine concentratie het best werkt, wordt bestreden door D. Nachmansohn en A. Mortimer. Zij vonden in hun experimenten daar geen gronden voor. Zij zagen, dat de maximum activiteit van het cholinesterase van mensen erythrocyten en hersenen lag respectievelijk bij 90 mgr % en 160 mgr % acetylcholine.

Nachmansohn (10) gebruikt echter een zeer hoge zoutconcentratie, n.l. 0,215 Mol bicarbonas natricus, terwijl Mandel en Rudney (16, 43) steeds een concentratie van 0,025 M bicarbonas natricus hadden. Reeds Glick vond, dat de cholinesterase-activiteit van konijnenserum (bevat hoofdzakelijk echt cholinesterase) echter niet dié van paardenserum (pseudo-

cholinesterase) ten opzichte van acetylcholine in een concentratie van 375 mgr % versterkt werd door Na CL en K CL. Alles en Hawes vonden, dat de cholinesterase-activiteit van mensenerythrocysten (alleen maar specif. cholinesterase) zeer versterkt werd door hogere Na CL concentraties. Verder toonden hun curves een verschuiving in de optimum-substraat concentraties van 4 mgr % acetylcholine bij 0,034 % Na CL naar 12 mgr % acetylcholine bij 0,85 % Na CL. Bij 0,025 Mol bicarbonus naticus ligt de optimum activiteit van het specifieke cholinesterrae bij 4 mgr % acetylcholine (Mendel en Rudney). Doen wij er K CL bij, in een concentratie van 0,16 M., dan krijgen wij niet alleen een verschuiving van de maximale activiteit van het cholinesterase van 4 mgr % naar 49 mgr % acetylcholine, maar ook een duidelijke vermindering van de enzym-activiteit bij 4 mgr %. Bij 0,08 Mol K CL ligt de optimum concentratie van acetylcholine bij 32 mgr % en bij 4 mgr % was er een minder sterke daling van de activiteit dan bij 0,025 M bicarbonus naticus + 0,16 M K CL. Bij 0,04 M K CL ligt de optium-activiteit bij 24 mgr % acetylcholine en bij 4 mgr % acetylcholine vinden wij weer een minder sterkere daling van de activiteit dan bij 0,08 M K CL. Het een en ander wordt door de volgende grafiek aangegeven.



Dus, er bestaat een duidelijk verband tussen de enzym-activiteit en de substraat concentratie, die door zouten veranderd wordt. Een geringe vermeerdering in de zout-concentratie geeft een graduele verschuiving van de optimale activiteit van het enzym naar hogere acetylcholine concentraties (wat de tegenspraak tussen Mendel, Nachmansohn en Rothenberg resultaten verklaart). Vermeerderen we het NaCl in plaats van het KCl, dan krijgen wij ook een verandering in de activiteit van het enzym ten opzichte van de substraat-concentratie, al is deze niet hetzelfde.

Uit deze waarnemingen blijkt de belangrijke rol, die ionen in de hydrolyse van acetylcholine door het specifieke cholinesterase spelen. Bij prikkeling gaat het kalium uit de cellen (M. Vogt), waardoor mogelijk de optimale toestanden voor het cholinesterase gehandhaafd blijven; de cholinesterase-activiteit zou anders, als de kaliumspiegel hetzelfde bleef, snel minder worden als de concentratie van het acetylcholine zou zakken (B. Mendel en H. Rudney).

We kunnen nu ook de activiteit (17) van het ware cholinesterase ten opzichte van substraat concentratie veranderen door bij het substraat zekere organische colloïden te voegen, die de elektrische lading van de enzym-deeltjes veranderen (bijv. protaminen positieve lading), doet de activiteit van het ware cholinesterase stijgen met de substraatconcentratie, net als bij het pseudo-cholinesterase. Doen we er dan weer stoffen bij met negatieve lading (colloïden), bijv. acacia (d.w.z. bij het met protamine behandelde ware cholinesterase), dan herstelt zich de originele verhouding van de activiteit ten opzichte van de substraat concentratie weer.

Deze verandering in de activiteitscurve van het specifieke cholinesterase door de protaminen tast op geen enkele manier de fundamentele eigenschap van het enzym aan, n.l. zijn specificiteit ten opzichte van de choline-esters. Dit laat zien, dat de verhouding tussen activiteit en substraat-concentratie slechts een secundaire eigenschap van het enzym is, die bepaald wordt door z'n milieu, terwijl de specificiteit van het enzym 'n absolute eigenschap van het specifieke cholinesterase is.

H. Casier en A. Delaunois (18) toonden met hun eigen methode aan, dat het cholinesterase van de rode bloedlichaampjes bij een acetylcholine concentratie van 200 tot 150 mgr % een zeer sterke activiteit ontplooidde, die maar 3 tot 5 minuten duurt en dan plotseling zwak wordt en dit blijft gedurende de gehele verdere proef.

Bij 100 mgr % acetylcholine zagen zij weer een intense activiteit minder sterk dan bij 200 tot 150 mgr % van het cholinesterase in de rode bloedcellen, die maar twee minuten duurt, daarna weer een zwakke activiteit. Bij 50 mgr % acetylcholine ontbreekt de eerste activiteitsphase en is de hydrolyse constant gedurende de gehele proef (20 min.). De werking van het cholinesterase is groter dan in de voorafgaande proef. Bij 3 à 4 mgr % acetylcholine (optimaal volgens Mendel en Rudney) vonden zij ook weer twee fasen: In de eerste phase (10 min.) zagen zij weer een zeer duidelijke activiteit van het cholinesterase, zonder dat deze ook maar een gemiddelde waarde bereikte van die bij de hoge acetylcholine-concentraties; de tweede phase wordt gekarakteriseerd door een zeer zwakke activiteit van het cholinesterase.

Als wij de hydrolyse door het serum-cholinesterase (20 min.) vergelijken met die door de rode bloedlichaampjes (de twee phases samen), merken we, dat deze cijfers elkaar nogal benaderen, maar als wij slechts de eerste phase beschouwen, dan moeten wij besluiten, dat de cholinesterase-werking van de rode bloedlichaampjes twee à driemaal zo sterk is dan die van het serum cholinesterase bij een concentratie van 200 mgr % acetylcholine en tweemaal zo sterk dan die van serum bij een zwakke acetylcholine concentratie (3 à 4 mgr %).

Hun proeven laten zien, dat bij sterke acetylcholine-concentraties de activiteit van het erythrocyten cholinesterase zeer sterk is in het begin, maar vermindert na 3 tot 5 minuten; terwijl bij een concentratie van 4 mgr % acetylcholine deze minder geprononceerd is in het begin, toch pas na 10 minuten gemiddeld vermindert. Bij 200 mgr % acetylcholine dus geen geringe activiteit, zoals Mendel en Rudney beweren, zelfs niet na 20 minuten hydrolyse; de waarde van de hydrolyse nadert sterk die na 20 minuten bij 4 mgr % acetylcholine.

De activiteit van de erythrocyten-cholinesterasen manifesteert zich dus bij twee concentraties, n.l. bij 200 mgr % en 3 mgr % acetylcholine, maar zij is globaal maximaal bij sterke acetylcholine-concentraties. De zeer plotselinge vermindering in activiteit van het erythrocyten-cholinesterase na een eerste zeer sterke phase, de vermindering, die zowel bij sterke als bij zwakke concentratie optreedt, komt door het choline, dat tijdens de reactie gevormd wordt, en even sterk is in beide gevallen (choline remt namelijk in vitro sterk het cholinesterase - R. Ammon (19) -). Het enige, wat ik over deze proeven van H. Casier en A. Delaunois (18) zou willen aanmerken, is de gebruikte methode, die door B. Mendel onbetrouwbaar geacht wordt (persoonlijke mededeling).

Bepaling (21) van het pseudo- en het specifieke cholinesterase.

De methode om het echte cholinesterase en het pseudo-cholinesterase te bepalen, bestaat door een specifiek substraat (specifiek resp. voor de beide cholinesterasen) te gebruiken. (11)

I. Acetyl- β methyl choline (mecholyl Merck) wordt door het specifieke, maar niet door het pseudo-cholinesterase gehydrolyseerd.

II. Benzoyl-choline wordt gehydrolyseerd door het pseudo-, maar niet door het specifieke cholinesterase (Mendel, Rudney en Mundell).

III. Acetyl- β methyl choline, noch benzoyl-choline wordt door het gewone esterase, 'n enzym, dat glyceriden en aliphatische ester kan hydrolyseren (Eason en Stedman 1937) gehydrolyseerd.

Om het specifiek cholinesterase te bepalen in een mengsel, dat twee enzymen bevat, hebben wij beslist mecholyl nodig, evenzo voor het pseudo-cholinesterase het benzoyl-choline. Willen we bijv. in plasma het specifieke en pseudo-cholinesterase bepalen, dan hebben wij aan acetyl-

choline-bepalingen alleen geen juiste maatstaf, al nemen wij ook acetylcholine in hoge en lage concentraties. In het nu volgende experiment laten we serum I en serum II op acetylcholine inwerken (in hoge en lage concentratie).

	Acethyl-B methyl-choline	Benzoyl- choline	Acetylcholine	
	0,03 M	0,006 M	0,06 M	0,0006 M
serum I	112	376	682	476
serum II	54	803	1438	577

(alles gedurende 20 min. en uitgedrukt in cc CO₂)

Hieruit zien we, dat beide variaties in de activiteit van het specifieke cholinesterase onbemerkt blijven, als we acetylcholine als substraat gebruiken (al is het ook in hoge en lage concentratie).¹

Serum II lijkt namelijk actiever te zijn zowel bij hoge als bij lage acetylcholine-concentraties, zodat serum II meer pseudo- dan specifiek cholinesterase bevat. De aanwezigheid van meer pseudo-cholinesterase in serum II wordt bevestigd door de bepaling met benzoylcholine als substraat. Nemen we echter mecholyl, dan blijkt serum II niettegenstaande zijn grotere activiteit bij lage acetylcholine concentraties veel minder specifieke cholinesterase bevatten dan serum. I.

Deze ogenschijnlijke tegenspraak wordt gemakkelijk begrepen als met de werking van het pseudo-cholinesterase, die in grotere hoeveelheid aanwezig is in serum II, dan in serum I, rekening wordt gehouden. Het pseudo-cholinesterase, dat ook enig effect bij lage acetylcholine-concentraties kan uitoefenen, voegt zijn activiteit, bij deze substraat-concentraties, bij die van het specifieke cholinesterase en maakt daardoor de bepalingen van het specifieke cholinesterase illusoir.

Wat de benzoyl-choline betreft, heeft Sawyer (22, 62) in 1945 gedemonstreerd, dat, zekere weefsels, als de lever van sommige knaagdieren, 'n enzym, de benzoyl-cholinesterase, die alleen benzoylcholine, maar niet acetylcholine, hydrolyseert, bevatten. Het is daarom nodig, om de mogelijkheid, dat benzoyl-cholinesterase in het bloed en weefsels, die we willen onderzoeken, aanwezig is, uit te sluiten. Hiervoor kunnen wij van het feit gebruik maken, dat benzoyl-cholinesterase, in tegenstelling tot het specifieke cholinesterase, niet door eserine (2×10^{-6} M) geremd wordt (Mendel en Gunther ongepubliceerd). Dus, als de activiteit van een enzympreparaat ten opzichte van benzoylcholine volledig door deze eserine-concentratie geremd wordt, is de mogelijkheid, dat benzoyl-cholinesterase (23) aanwezig is, uitgesloten. Altijd gebruikten wij deze proef met benzoylcholine als substraat en vonden in plasma en erythrocyten nooit benzoyl-cholinesterase.

Over de Werking en de Structuur van het Cholinesterase (124, 136).

Cholinesterase versnelt de hydrolyse van acetylcholine in choline en azijnzuur. De werking is zeer gevoelig voor schommelingen in de Ph. Bij een Ph van 5—6,5 is er geen werking; bij een Ph van 6,5 begint de hydrolyse. Bij een Ph van 8,5 treedt er spontaan een hydrolyse op van het substraat. De optimum-Ph ligt bij 8,4 (Glick).

De temperatuur speelt ook een zeer belangrijke rol, wat uit het volgende moge blijken:

Tussen 25—40° C zien wij een langzame stijging der hydrolyse; bij 40—50° stijgt de hydrolyse zeer snel; bij 55—60° zien wij een snelle daling der hydrolyse optreden; 50° is de maximum-temperatuur. Bij 55° treedt er een sterke remming op van de hydrolyse van het substraat (P. Morand en H. Laborit). De snelheid van de remming stijgt met de temperatuur. Bij 56° heeft men één uur nodig voor een totale remming. Wij werkten steeds bij een temperatuur van 37°, d.w.z. de physiologische.

De enzymconcentratie zelf speelt ook een rol, bij een hogere enzymconcentratie krijgen we een snellere styging van de hydrolyse, dus een steilere kromme.

Het cholinesterase is bij 4° C $\pm$ 15 dagen stabiel.

Wat de structuur betreft, hierover is haast niets bekend. Gebruikmakend van het hoge gehalte aan cholinesterase in het elektrische orgaan van de torpedo vulgaris hebben Nachmansohn en Lederer (52) extracten bereid, waarvan 1 mgr 100 mgr acetylcholine per uur kan hydrolyseren. Door dialyse verloor het grotendeels zijn werking; door glutathion, cysteine, glycol of blauwzuur werd het weer geactiveerd. Waarschijnlijk wordt het cholinesterase door een begeleidende stof tegen metaalwerking beschermt, die door dialyse verloren gaat. Koper, jodacetaat en malleinezuur, welke een zeer grote affiniteit voor SH-groepen hebben, inactiveren het cholinesterase, hieruit besluiten Nachmansohn en Lederer, dat het ferment waarschijnlijk -SH-groepen bevat. Met het elektrische weefsel van de electrophorus electricus werd de zuivering van het cholinesterase voortgezet, totdat 1 mgr proteïne 5.000 mgr acetylcholine per uur kan splitsen (Nachmansohn en Rotenberg). Het specifieke cholinesterase (104) kan vrij van het niet-specifieke enzym bereid worden door haemolyse van de rode bloedlichaampjes, wassen, adsorptie aan kieselguhr en uittrekken met 0,001 N natronloog. Deze roodachtige vloeistof is 20—30 maal zo actief dan de initiale bloedcellen (droge stof). Er kan uit hondenpancreas een pseudo-cholinesterase bereid worden, dat 10.000 maal zo sterk is dan paardeserum. Strelitz beschreef een reiniging van het pseudo-cholinesterase uit paardeserum; hij verkreeg zo een praeparaat, dat 5.000 maal zo sterk was als het initiale praeparaat.

De bepaling van het choline-esterase in vitro (56).

Methoden.

1. De biologische methode, die berust op het aantonen van de enzymatische acetylcholine-hydrolyse waarbij het verdwijnen van het acetylcholine aan darm, hart en spier gemeten wordt.
2. De electro-titrimetrische methode volgens Glick.
3. De colorimetrische methode volgens Abdon en Unväs.
4. De potentiometrische micromethode volgens Delaunois en Casier. Men gebruikt hiertoe een gewone potentiometer en een antimoon-electrode, terwijl deze methode het mogelijk maakt het cholinesterase te bepalen in acetylcholine-oplossingen van 3 mgr %.
5. De titrimetrische methode volgens Renohaw, Bacon, Stedman, White, Vahequist, Hall en Lucas, en de micromethode volgens Glick.

In het kort is het principe als volgt:

Bij een waterige acetylcholine-oplossing worden enkele druppels van de indicator Broomthymolblauw (eventueel Kresolrood) gebracht, waarna met een base van bekende sterkte de kleur op blauw wordt gebracht. Dan wordt een bepaalde hoeveelheid serum toegevoegd, en indien nodig de kleur met alkali gejusteerd. Indien na verloop van tijd het acetylcholine door het ferment gesplitst wordt in choline en azijnzuur, waardoor de indicator naar de zure kant omslaat, wordt de vloeistof door steeds toedruppelen van gestelde alkali op dezelfde kleur gehouden. De hoeveelheid alkali, in een bepaalde tijd toegevoegd, is een maat voor de door het esterase (in het serum) bewerkstelligde acetylcholine-hydrolyse.

Het nadeel van deze methode is wel, dat de eigen kleur der ferment-oplossing de vloeistof ook een kleur geeft, waardoor de beoordeling der kleuromslag zeer veel moeilijker wordt.

6. De gasanalytische methode met een Warburg-Barcroft apparaat volgens Ammon en Stedman; of volgens Rinket is het van Slijke apparaat. Het Warburg apparaat werd door ons gebruikt en een gepreciseerd verslag van deze methode volgt hieronder.

Methodiek.

A. De bepaling van het specifiek cholinesterase.

I. Inleiding.

Zoals wij later zullen zien, is alleen het specifiek cholinesterase belangrijk. Het komt voor: plm. 1% in het menselijk serum en plm. 99% in het menselijke erythrocyten.

Ook is gebleken, dat wij met acetylcholine-oplossing als substraat het ware cholinesterase niet kunnen bepalen, daar zowel het echte- als het pseudo-cholinesterase het acetylcholine splitsen.

Daar er nu in vol bloed zowel het echte als de pseudo-vorm aanwezig is — het pseudo-cholinesterase voornamelijk in het serum — moeten wij, ter differentiatie van beide fermenten, specifieke substraten gebruiken, die dus alleen door het specifieke en alleen door het pseudo-cholinesterase gesplitst worden.

Nu hebben **Mendel** en **Rudney** aangetoond, dat het mecholyl d.i. acetylβeta methylcholinechloride, hoofdzakelijk door het ware cholinesterase gesplitst wordt. Zo vonden 'ze ook, dat het benzoylcholinechloride alleen maar door de pseudovorm gehydrolyseerd wordt. Wij hebben nu ter bepaling van het ware cholinesterase-gehalte in het bloed van het mecholyl gebruik gemaakt.

II. Bij een temperatuur van 37° C. en een pH van 7,6—7,8 wordt door het specifieke cholinesterase het acetylβeta methylcholinechloride gesplitst in azijnzuur en het cholinederivaat.

Het vrij gekomen azijnzuur wordt in een manometer volgens **Dixon** bepaald, door het meten van de hoeveelheid koolzuurgas, die ontstaat, wanneer het vrijgekomen azijnzuur in contact wordt gebracht met een bepaalde hoeveelheid bicarbonas natricus oplossing.

III. Apparatuur.

- a. De Barcroftmanometer, in uitvoering volgens **Dixon** en **Elliot**, die door ons gebruikt werd, is afgebeeld in fig. 1.

Deze bestaat uit een U-vormige buis, die aan de uiteinden is omgebogen en via een zijvertakking verbonden is met de nog te noemen reactievaatjes. Het geheel is op een houten plankje gemonteerd, terwijl langs de beide benen een 20 cm lange, in millimeters verdeelde schaal is aangebracht. De benen zijn gevuld met door **Soedan III** roodgekleurde petroleum tot het merkstreep 10.

De beste manier om de manometer te vullen is door met een capillairpipet de vloeistof in één van de omgebogen uiteinden te laten lopen, terwijl de manometer op de kop wordt gehouden. Door het toestel nu om te draaien, vult de U-buis zich, waarna met een filtreerpapiertje het uiteinde zorgvuldig wordt gereinigd.

Daar het toestel zo geconstrueerd is, dat bij ophangen de U-buis niet loodrecht naar beneden gericht is, doch ongeveer een hoek van 20° naar achteren maakt, is het een vereiste steeds op gelijke wijze — en wel loodrecht op de buis — de stand af te lezen, daar men anders gemakkelijk tot foutieve aflezingen van 2—3% komt.

- b. Reactievaatjes. (Zie hiervoor de afbeelding 2).

Het bestaat uit een reactie-gedeelte met een eraan bevestigde tuimelaar. De inhoud van de laatste kan door voorzichtig omdraaien in de eerste worden overgebracht. Het geheel is voorzien van nauwsluitende glazen slijpstukken, die van te voren met een dun vetlaagje worden bedekt, teneinde het toe- en uittreden van lucht en koolzuurgas volledig te verhinderen. De stop op de tuimelaar is zo geconstrueerd, dat in een bepaalde stand het reactievaatje met de

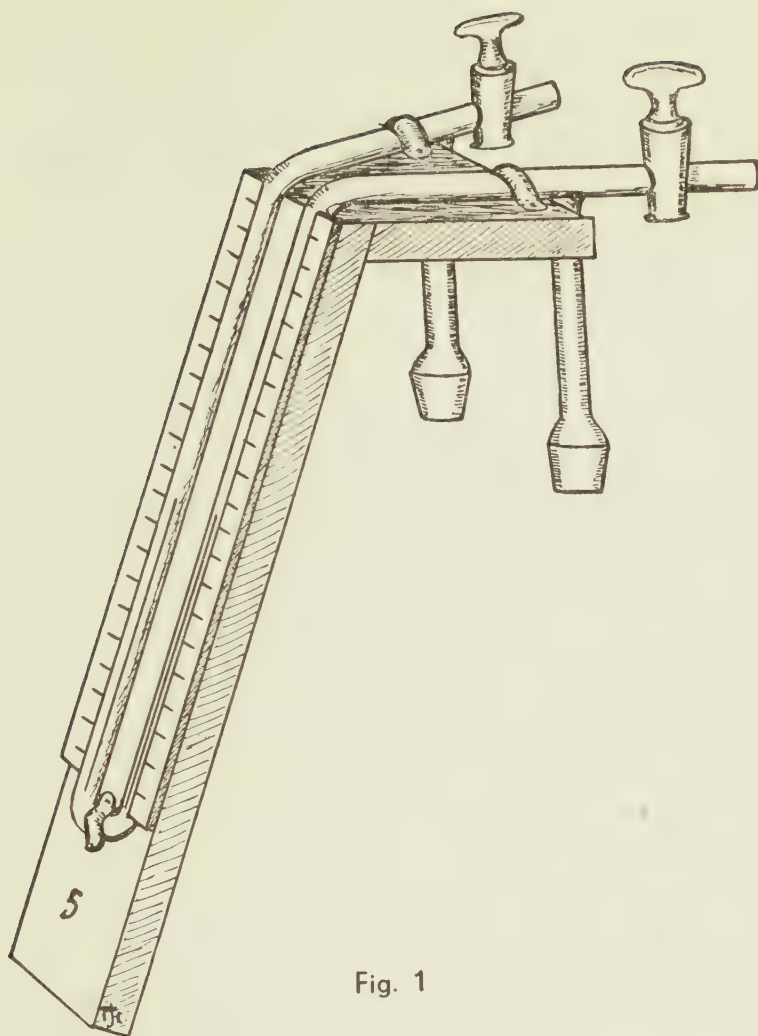


Fig. 1

Fig. 1. De Barcroft-manometer, in uitvoering volgens Dixon en Elliot. $\frac{2}{5}$ der ware grootte.

buitenlucht in verbinding staat; draait men de stop 180° om, dan wordt dit opgeheven. Het stopje wordt door middel van een elastiek goed aan de tuimelaar bevestigd, terwijl op gelijke wijze de verbinding van het geheel aan de manometer wordt verzekerd. Na gebruik der vaatjes, worden deze zorgvuldig ontvet met aether, waarna ze gedurende enige uren in chroomzuur worden geplaatst.

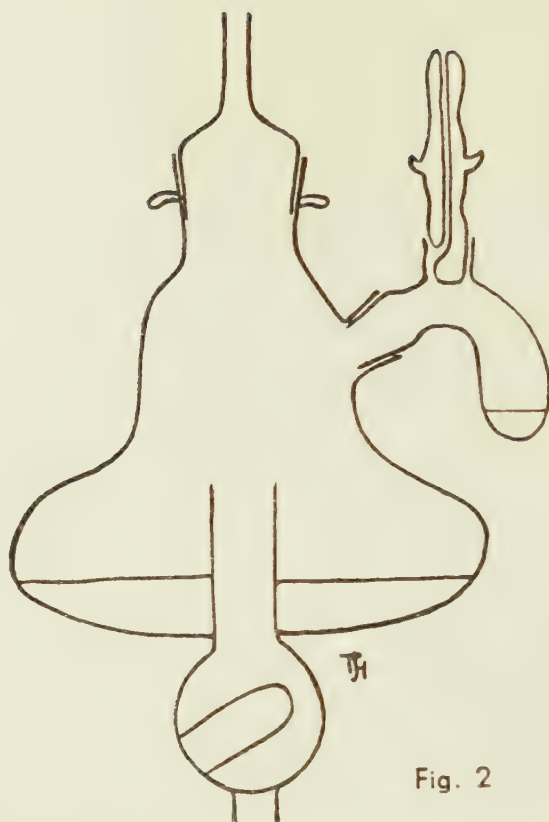


Fig. 2

Fig. 2. Reactievat met tuimelaar 1/1 der ware grootte.

Tenslotte worden ze met leiding- en gedistilleerd water gewassen en volledig gedroogd.

Aan ieder been van de manometer wordt nu een vaatje bevestigd, waarvan de rechter als compensatievaatje dienst doet.

Deze wijze van werken heeft grote voordelen en wel voornamelijk hierdoor, dat de invloed der barometerstand en van de temperatuur op beide vaatjes gelijk is, zodat hiermede bij de bepaling geen rekening behoeft te worden gehouden. Een eis is echter, dat de beide vaatjes van ieder apparaat hetzelfde volume hebben (meestal 40 ccm) en dat men, willen de bepalingen met elkaar te vergelijken zijn, steeds dezelfde vaatjes gebruikt en zich zorgvuldig voor verwisseling behoedt.

c. Het Koolzuurinleidsysteem.

Teneinde meer constante uitkomsten te verkrijgen, zijn wij er toe overgegaan de lucht boven de vloeistof in het reactievaatje te ver-

vangen door een koolzuurmengsel, dat bestaat uit 95% O_2 en 5% CO_2 .

Hiertoe is een aan de ene kant gesloten glazen buis geconstrueerd, voorzien van zijbuisjes, die op een onderlinge afstand van 6 cm met een hoek van 150° ten opzichte van elkaar zijn aangebracht.

Afwisselend steken de zijbuisjes naar links en naar rechts. Ze zijn door middel van gummislangen met de uiteinden der manometers verbonden.

Via het open uiteinde der glazen buis, wordt uit een cylinder het gasmengsel in de reactievaatjes gebracht, terwijl men door de kranen in de manometerbuizen de toevoer ervan kan aan- en afsluiten.

d. Waterbad en schudapparaat.

Het elektrische waterbad, dat plaats biedt aan zes manometers, is voorzien van een Thermostaat, waardoor het mogelijk is gedurende de tijd van werken een constante temperatuur van $37^\circ C$. te verkrijgen. Aan iedere zijde van het bad bevindt zich een koperen stang, die voorzien is van drie er op vastgesoldeerde plaatjes, waarop de manometers kunnen worden vastgeschroefd. De stang, die gedragen wordt door twee wieltjes, kan door middel van een motor in heen- en weergaande beweging worden gebracht. Dit geschiedt teneinde de beide reactievaatjes van één manometer dezelfde temperatuur te laten aannemen.

De schudsnelheid, door ons gebruikt, bedroeg 90 volledige oscillaties per minuut. Het waterbad met enkele manometers, het schudapparaat en het CO_2 inleidsysteem is afgebeeld in fig. 3.

IV. IJking.

Principe.

Teneinde vast te kunnen stellen, met welke hoeveelheid CO_2 de verkregen uitslag overeenkomt, is het nodig ieder toestel van te voren nauwkeurig te ijken. Men gebruikt hiervoor een bepaalde hoeveelheid van een gestelde Aziijnzuuroplossing en laat deze, onder dezelfde omstandigheden als bij de nog te beschrijven enzymbepaling gebruikelijk was, met overmaat Bicarbonas natricus oplossing reageren. De ontstane uitslag, veroorzaakt door het uit het bicarbonas natricus verdreven koolzuurgas, wordt grafisch uitgezet.

Benodigde oplossingen.

- Bicarbonas natricus oplossing van $2\frac{1}{2}\%$, die gedurende 60 minuten met een gasmengsel van 95% O_2 en 5% CO_2 is doorgeborreld.
- Aziijnzuuroplossingen van bekende sterkte N1: 0.01; 0.02; 0.03; en 0.04 normaal.
- Gedestilleerd water, dat op gelijke wijze als de Bicarbonas natricus opl. is behandeld.

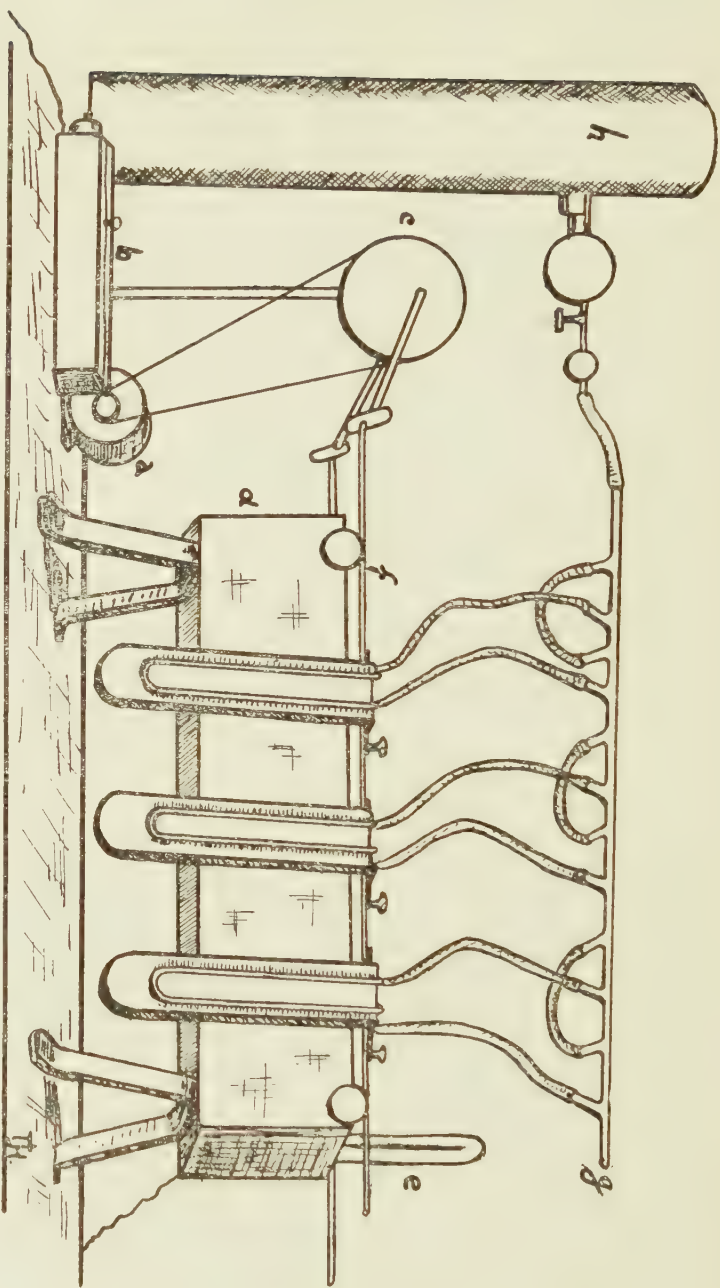


Fig. 3

Fig. 3. Het door ons gebruikte apparaat. a. motor. b. weerstand. c. drijfwiél. d. waterbad. e. thermometer.
f. stang met drie manometers. g. CO_2 inleidstelsel; 6 openingen zijn door onderlinge verbindingen afgesloten.
h. $\text{O}_2\text{--CO}_2$ cylinder.

Werkwijze:

In het linker reactie-vaasje wordt met een verdeelde 1 cc. pipet $\frac{1}{2}$ ml. Azijnzuuroplos. gepipetteerd, waarna 1 ml. opl. c. wordt toegevoegd.

In de tuimelaar brengen we $\frac{1}{2}$ ml. Bicarbonas natricus oplossing.

Het rechter vaasje wordt op gelijke wijze gevuld, met deze wijziging, dat de Azijnzuuroplossing door het doorgeborrelde water wordt vervangen.

Nadat de vaatjes op de eerder beschreven wijze aan de manometers bevestigd en deze in het waterbad geplaatst zijn, laten we gedurende 20 min. het gasmengsel door de toestellen stromen, terwijl het schudapparaat in werking wordt gebracht en de temperatuur van het waterbad 37° C. is.

Daarna sluiten we de gastoevoer af, sluiten de stopjes op de tuimelaars, en schudden nog zo lang, tot het niveau in beide benen der manometers even hoog is. Na de kranen in de manometers te hebben gesloten, lezen we de stand na drie min. af, terwijl ter controle dit aflezen nogmaals na drie min. wordt herhaald. Nu brengen we door draaiing de inhoud van de tuimelaars over in het reactiegedeelte en lezen na vijf minuten, terwijl de manometers voortdurend in oscillerende beweging worden gehouden, de stand in het linkerbeen af. De reactie, die heeft plaatsgevonden, blijkt na deze tijd volledig te zijn afgelopen.

Door nu Azijnzuuroplossingen te nemen van verschillende sterkte, krijgen we een resultaat, dat in fig. 4 voor de vier gebruikte manometers is weergegeven.

V. De Fermentbepaling.

Benodigde oplossingen.

a. Fermentopl. We gebruiken hiertoe vers afgenomen veneus bloed, dat door schudden met glaskogeltjes gedefibrineerd wordt. Hiervan wordt 1 ml. met 5 ml. $2\frac{1}{2}\%$ Bicarbonas natricus oplossing gemengd, en gedurende 60 min. mechanisch met het bekende gasmengsel doorgeblazen. De snelheid bedraagt 1 Liter per minuut. Door deze methode bewerkstelligen we:

1. dat de pH schommelt tussen 7,6—7,8, welke de optimum waarde voor de hydrolyse is. Er ontstaat namelijk een buffersysteem, dat gevormd wordt door het NaHCO_3 en het ontstane H_2CO_3 , waarvan de pH bij 7,6—7,8 gelegen is.
2. dat de haemolyse van het bloed vrijwel volledig is (voor 97% of meer).

b. Substraatopl. We maken een 5% oplossing van Mecholyl (fabrikaat „Merck”) in $2\frac{1}{2}\%$ Bicarbonas natricus oplossing, die van te voren gedurende 60 min. met het 5% CO_2 houdende gasmengsel is doorgeblazen.

c. Bicarbonas natricus oplossing van $2\frac{1}{2}\%$, gedurende 60 min. op gelijke wijze als bij de IJking beschreven, behandeld.

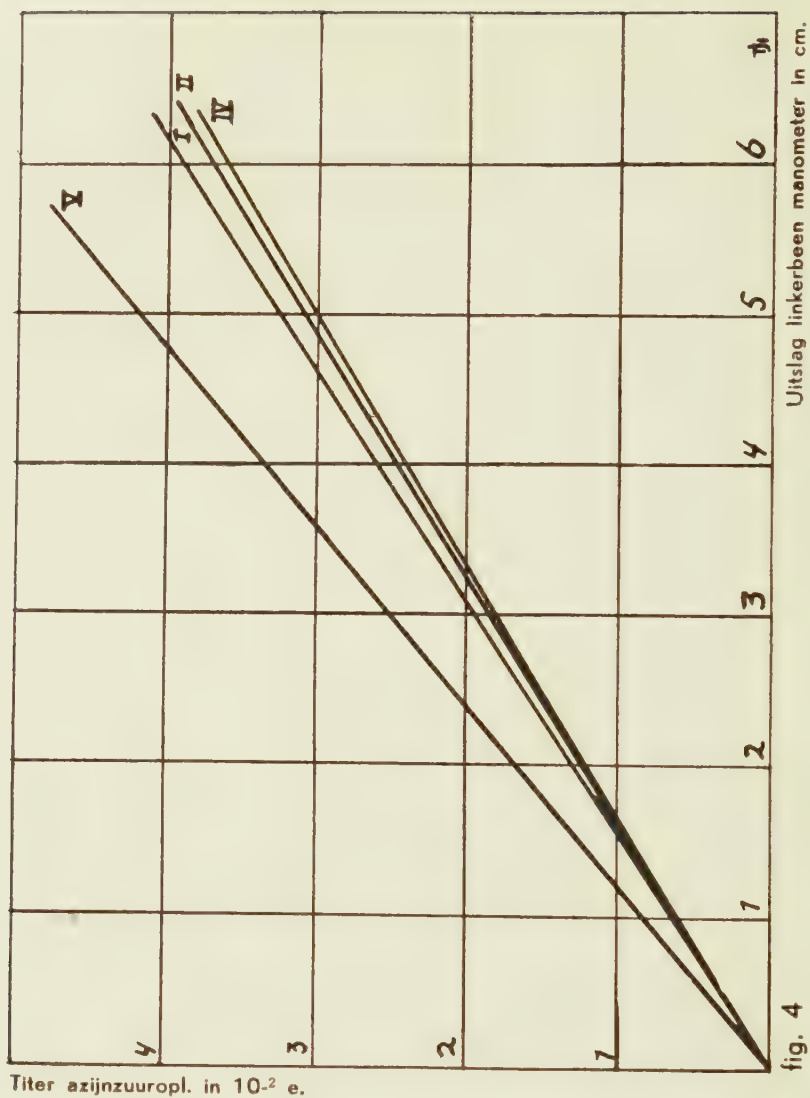


fig. 4

Fig. 4. Grafische voorstelling van de Ijkingscurven der door ons gebruikte toestellen.

Bepaling.

Hiervoor pipetteert men in het linker vaatje:

In het reactiegedeelte: $1\frac{1}{2}$ ml. Fermentoplossing.

In de tuimelaar: $\frac{1}{2}$ ml. Substraatoplossing.

In het rechter vaatje, dat als compensatie-vaatje dienst doet:

In het reactiegedeelte: $1\frac{1}{2}$ ml. Bicarb. natricusoplossing.

In de tuimelaar: $\frac{1}{2}$ ml. Substraatoplossing.

Op deze wijze wordt de invloed der autohydrolyse van het Mecholyl geheel te niet gedaan.

Nu wordt op de gelijke wijze gehandeld als bij de ijking is aangegeven. Zodra men echter de oplossingen verenigd heeft, leest men gedurende één uur iedere tien min. de stand in het linkerbeen der manometer af, teneinde een goed overzicht in de gang der hydrolyse te verkrijgen. Gedurende het aflezen blijven de manometers in oscillerende beweging, daar men anders door teruglopen van het niveau tot foutieve waarden komt.

Is de bepaling teneinde, dan worden alle kranen open gedraaid en de manometers uit het water genomen.

Zeer opmerkelijk is het feit, dat bij een bepaling, waarbij het gasmengsel bij het doorstromen der toestellen, vervangen werd door zuivere zuurstof, de uitslag nihil was. Uit de litteratuur is gebleken, dat de cholinesterase bestand is tegen een druk van 7 atm. zuurstof, zodat we het niet uitslaan door een thans instabiele pH moeten verklaren, waaruit blijkt, dat het inleiden van het 5% CO₂ houdende gas van essentieel belang is voor de bepaling.

Het blijkt, dat de hydrolyse een zeer normaal verloop heeft, hetgeen uit de volgende statistiek te zien is.

Tijd. min.	Manometer I		Manometer III		Manometer V	
	stand	uitslag	stand	uitslag	stand	uitslag
0.	10.4	0.	9.6	0.	7.4	0.
10.	11.3	0.9	10.5	0.9	6.7	0.7
20.	12.1	1.7	11.4	1.8	6.0	1.4
30.	12.8	2.4	12.2	2.6	5.5	1.9
40.	13.4	3.0	13.0	3.2	5.0	2.4
50.	14.0	3.6	13.6	4.0	4.5	2.9
60.	14.6	4.2	14.2	4.6	4.1	3.3

In grafiek uitgezet, krijgen we een licht gebogen kromme (zie fig. 5). Dit in aanmerking genomen, hebben we besloten steeds de stand na 60 min. af te lezen en deze te gebruiken als waarde voor de cholinesterase werking.

Berekening.

Het ware cholinesterase gehalte — evenals die van de Pseudo-vorm — wordt steeds aangegeven in mm³ vrijgekomen koolzuurgas.

Hebben we na 60 min. voor een bepaald substraat een zekere uitslag in het linkerbeen der manometer verkregen, dan wordt door middel van de grafiek in fig. 4 uitgerekend met welke normaliteit Azijnzuur (berekend op 1/2 ml.) de uitslag overeenkomt. Deze hoeveelheid Azijnzuur komt nu overeen met een nauwkeurig te becijferen koolzuurgas. Door hiervoor van te voren een statistiek te maken, wordt het geheel zeer veel vereenvoudigd.

Foutendiscussie.

De fouten, die bij de beschreven bepaling kunnen worden gemaakt, zijn

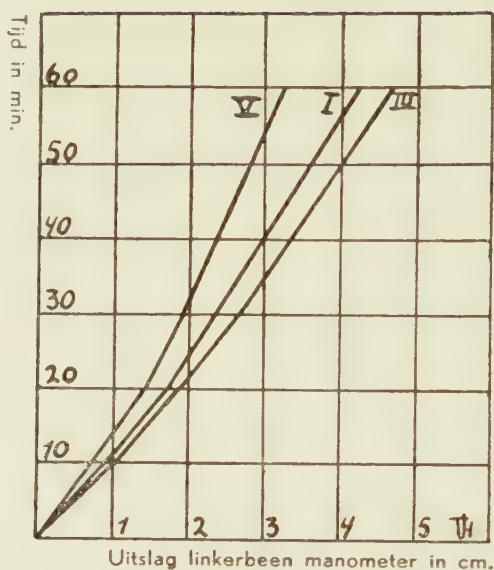


Fig. 5

vele; doch bij nauwkeurig opvolgen van het voorschrift zijn deze relatief vrij gering te noemen.

De in de hierboven weergegeven statistiek vermelde bepalingen hebben allen betrekking op dezelfde fermentoplossing. De waarden, die hierbij verkregen werden, waren resp. 302.4 mm^3 , 308.0 mm^3 en $311.6 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Een verschil dus van rond 3%.

Bij de vele bepalingen, die werden uitgevoerd met bloed van gezonde personen, is echter gebleken, dat de „normale waarde” van het specifieke cholinesterase sterk wisselend is. Zie fig. 6.

Normaal moeten worden gerekend de gehalten, gelegen tussen de waarden 280 en 360. Waarden er beneden of er boven moeten resp. verlaagd en verhoogd worden verondersteld.

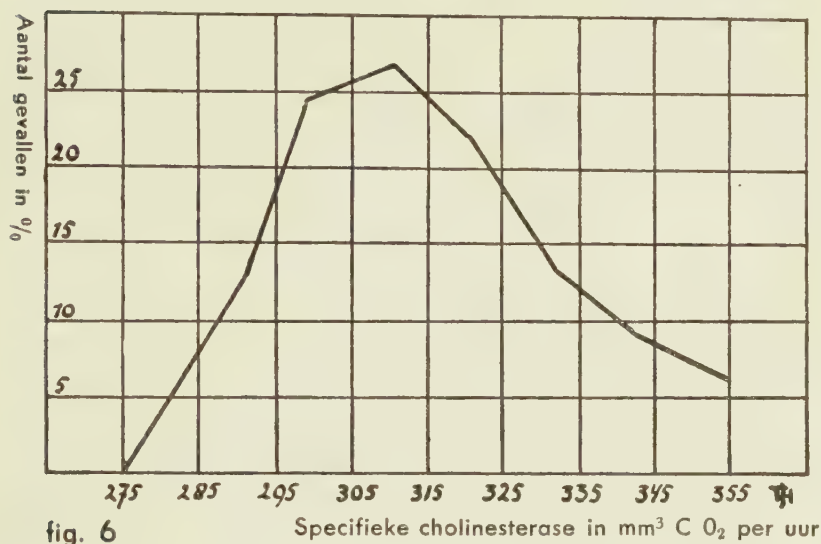
B. De bepaling van de Pseudo-cholinesterase.

I. Inleiding.

Voor het pseudo-cholinesterase, dat hoofdzakelijk in het menselijke serum wordt aangetroffen, en slechts voor een zeer klein percentage in de menselijke erythrocyten, kunnen twee bepalingsmethoden worden aangewend.

- a. Door vol bloed te gebruiken en als specifiek substraat het benzoyl-cholinechloride.

- b. Door gebruik te maken van de omstandigheid, dat het specifieke cholinesterase voor 99% in de menselijke erythrocyten voorkomt, en de pseudovorm voornamelijk in het menselijke serum. Nemen we nu menselijk serum, dat geen spoor haemolyse mag vertonen, dan kunnen we het acetylcholinechloride, dat zowel door het ware- als het pseudo-cholinesterase gesplitst wordt, als substraat gebruiken. Beide methoden zijn door ons toegepast.



II. De bepaling van het pseudo-cholinesterase in vol bloed met benzoyl-cholinchloride als specifiek substraat.

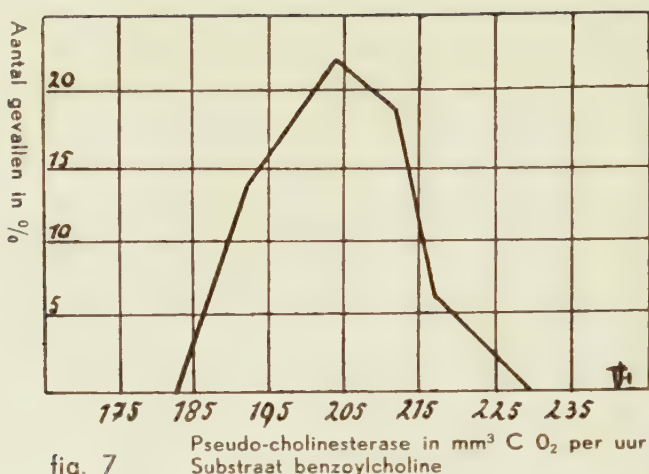
Het principe, de apparatuur en de werkwijze is volkomen gelijk aan die bij de echte cholinesterase genoemd.

Als substraatoplossing wordt een 5% oplossing van benzoyl-cholinechloride in een 2½% oplossing van Bicarbonas natricus, dat weer op de bekende wijze is behandeld, gebruikt.

Bij de bepalingen, die werden uitgevoerd met bloed van gezonde personen, is ook hier gebleken, dat de „normale waarde” van het pseudo-cholinesterase sterk individueel is, zodat ook hier een vrij grote breedte moet worden aangenomen. Zie fig. 7.

Normaal dienen te worden geacht de gehaltes gelegen tussen 180 en 230. Helaas was het ons door ontbreken van het benzoyl-cholinechloride niet mogelijk deze methode gedurende het gehele onderzoek voort te zetten en waren wij derhalve gedwongen, de tweede methode ter bepaling van de pseudovorm ter hand te nemen.

III. De bepaling van het pseudo-cholinesterase in serum, met acetylcholinechloride als substraat.



Het principe der bepaling en de apparatuur is weer als bij het specifieke cholinesterase beschreven.

Werkwijze.

Benodigde oplossingen.

- Substraat. Een 1% acetylcholinechloride-oplossing in een 60 min. doorgeborrelde Bicarb. natricus opl. van 0.2%.
Deze werd bereid uit een 5% sterke stockoplossing Acetylcholine „Roche” door hiervan 1 ml. te nemen, deze te verdunnen met 1½ ml. gedest. water en 2½ ml. Bicarb. natricusoplossing van 0.40%. De beide toegevoegde oplossingen werden eerst gedurende 60 min. met het bekende gasmengsel langzaam doorgeblazen.
- Ferment. 1 ml. vers afgecentrifugeerd serum, dat geen spoor haemolyse vertoont, wordt verdund met een 60 min. doorgeborrelde Bicarb. natricus oplossing van 0.20% tot 27½ ml. Hierdoor bevat 1½ ml. der ferment oplossing 54 mm³ onverdund serum.
- Bicarb. natricusoplossing 0.20%, die wederom op de bekende wijze met het gasmengsel is behandeld.

Voor de bepaling pipetteert men in het linker vaatje:

In het reactiegedeelte: 1½ ml. fermentoplossing.

In de tuimelaar: ½ ml. substraatoplossing.

In het rechter (is compensatie-) vaatje:

In het reactiegedeelte: 1½ ml. Bicarb. natricusopl. 0.2%.

In de tuimelaar: ½ ml. Substraatoplossing.

Zo wordt ook hier de invloed der autohydrolyse van het acetylcholinechloride volledig opgeheven.

De bepaling wordt nu verder uitgevoerd als beschreven bij de bepaling der ware cholinesterase.

Bij de bepalingen met serum van gezonde personen is gebleken, dat de „normale waarde” op deze wijze bepaald ook een vrij grote breedte heeft nl. 170 tot 220. Zie hiervoor fig. 8.

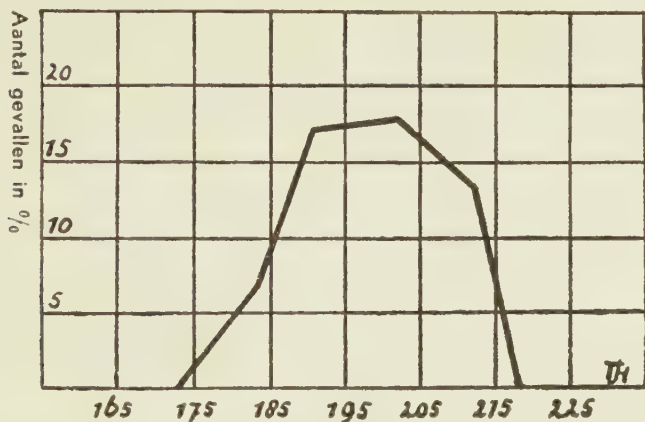


fig. 8 Pseudo-cholinesterase in mm³ C O₂ per uur
Substraat acetylcholine

Hij is dus iets lager gelegen dan bij de bepaling volgens de Benzoyl-cholinechloride methode.

Waarden lager dan 170 moeten verlaagd beschouwd worden, en waarden boven de 220 mm³ verhoogd.

Eigen onderzoek

HOOFDSTUK IV

ESSENTIELE HYPERTENSIE.

Mevr. van M., 29 jaar oud, klaagt de laatste jaren veel over hoofdpijn; ze ziet vrij goed, heeft geen last van hartkloppingen of dikke voeten. Haar tensie bedraagt 275—165, haar cor is naar links gedilateerd, de ictus is heffend en staat 1 vinger buiten de medioclaviculairlijn, de A_2 is geaccentueerd. Longen geen bijzonderheden. Haar lever is 1 vinger onder de ribbenboog te palperen en is vrij vast. Haar Rowntree is 63%. De Urea-Clearance (v. Slyke) bedraagt 59%. Haar concentratie vermogen van de urine is 1023. Urine: albumen —, sediment geen bijzonderheden. Haar basale stofwisseling is $+ 28\%$. De intraveneuse pyelogrammen leveren niets bijzonders op, haar oogfundus laat nauwe bloedvaten zien met in het rechter oog een bloedinkje. Haar E.C.G. toont vlakke T-toppen met een negatieve T_2 en T_3 . De R_4 is $1\frac{1}{2}$ mm. De cystoscopie was normaal. De indigo carmijn uitscheiding trad op na 10 minuten.

De specifieke cholinesterase is $336 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

De pseudo cholinesterase is $212 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. J., 40 jaar oud heeft sinds haar laatste partus veel pijn in het achterhoofd, ze braakt niet, is wel erg misselijk, kan niet goed meer lezen, ze slaapt zeer slecht, tensie 115—145, pols 120, regulair aequaal, haar cor is naar links gedilateerd, de ictus staat 1 vinger buiten de medioclaviculairlijn, de A_2 is geaccentueerd. Longen geen bijzonderheden, haar lever of milt zijn niet palpabel, de urine bevat geen eiwit, in het sediment zitten enkele erythrocyten. Haar oogfundus vertoont spastische vaten, met in het linker oog onder de macula een klein bloedinkje, de Urea-Clearance (van Slyke) is 85%, haar urine concentratie komt tot 1018, de pyelogrammen laten een goede uitscheiding zien met normale vorm, haar E.C.G. is een linksvorm met een negatieve T_3 , haar basaal metabolisme is $+ 6\%$, haar cholesterine bedraagt 2,3 o/oo, het specifieke cholinesterase bedraagt 448—425 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$ (dus te hoog), haar pseudo-cholinesterase is 165 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$. Wij hebben patiente toen 2 weken lang $3 \times$ daags $7\frac{1}{2}$ mgr. prostigmine gegeven, hierop zakte haar bloeddruk niet, haar specifieke cholinesterase zakte tot 260 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase bleef onveranderd.

Mej. F., 79 jaar oud, hoest weinig, geeft practisch niets op. Ze heeft vaak pijn laag onder in de rug, geen mictieklachten, ze heeft niet veel last van hoofdpijn, is niet duizelig en ziet goed, ze heeft wel enige dyspnoe d'effort, geen dikke benen. Haar bloeddruk bedraagt 185/90. Haar arteria brachialis is verhard. Haar cor is even naar links gedilateerd, met een geaccentueerde A_2 . Haar lever of milt zijn niet te voelen. Haar urine bevat geen eiwit, het sediment levert geen bijzonderheden op. De concentratie is 1023. De Urea-Clearance (van Slyke) is 63%, terwijl de Rowntree 89% is. He. E.C.G. heeft diphasische T_1 T_2 en T_3 en toont een

linksvorm. Haar oogfundus toont enige spasme. Het cholesterinegehalte is 2,98 o/oo, het specifieke cholinesterase is 324 mm³ CO₂, het pseudo-cholinesterase is 168 mm³ CO₂.

Mej. S., 60 jaar oud, heeft veel last van duizeligheid en hoofdpijn. Ziet heel goed, ze heeft geen last van dyspnoe d'effort, ze hoest niet en geeft niet op. Haar bloeddruk bedraagt 240/110. Haar cor is iets naar links gedilateerd, de A₂ is geaccentueerd. De lever is even te voelen. De urine bevat geen eiwit, het sediment toont geen bijzonderheden. Het S.G. is 1022. Het ureum gehalte van het bloed is 340 mgr. per L. Het specifieke cholinesterase is 324 mm³ CO₂, het pseudo-cholinesterase bedraagt 188 mm³ CO₂.

Mej. K., 68 jaar oud, heeft al jaren lang suikerziekte, haar bloeddruk bedraagt 200/120. Haar oogfundus toont geen afwijkingen. Het cholesterinegehalte van haar bloed bedraagt 2,63 o/oo. Haar basale stofwisseling is + 0%, haar E.C.G. toont een linksvorm. De urine bevat geen eiwit, het sediment toont geen afwijkingen. De Urea-clearance (van Slyke) is 64%, het specifieke cholinesterase is 336 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase is 280 mm³ CO₂, (dus duidelijk verhoogd).

Mej. S., 73 jaar oud, staat bij ons al jaren bekend als een suikerpatiente, haar bloeddruk bedraagt 250/120, haar oogfundus toont gekronkelde arteriën met een verbrede reflex, het cholesterinegehalte van haar bloed is 3,57 o/oo. Haar stofwisseling is + 22%. Haar E.C.G. toont een links vorm met een vlakke T₁. Haar urine bevat geen eiwit. Haar sediment toont geen bijzonderheden, de Rowntree is 34%, het ureum gehalte van haar bloed bedraagt 240 mgr. per L. Het S.G. van de urine is 1021. Het specifieke cholinesterase is 364 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase 190 mm³ CO₂.

Mej. H., 65 jaar oud, suikerziekte, heeft een bloeddruk van 225/100. Haar oogfundus is niet te beoordelen door de diffuse lenstroebeling. Het cholesterinegehalte van haar bloed bedraagt 2,65 o/oo. Haar stofwisseling is + 28%. Haar E.C.G. laat een linksvorm zien. De urine bevat geen eiwit, het sediment geen afwijkingen. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 450 mgr. per L. Het S.G. van de urine is 1026, het specifieke cholinesterase is 336 mm³ CO₂, het pseudo-cholinesterase bedraagt 263 mm³ CO₂ (te hoog).

Mej. B., 64 jaar oud, heeft ook suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 250/110. Haar E.C.G. laat een linksoverweging zien met een negatieve T₁ en een vlakke T₂. Het cholesterine gehalte van haar bloed is 2,77 o/oo. Haar stofwisseling is + 26%. Haar urine bevat een spoor eiwit, het sediment geen afwijkingen. Het specifieke cholinesterase is 302 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase gehalte is 222 mm³ CO₂.

Mej. D., 50 jaar oud, suikerpatiente, heeft een bloeddruk van 240/140. Het cholesterine gehalte van haar bloed bedraagt 2,2 o/oo. Haar basaal stofwisseling is + 0%. Haar oogfundus toont een spasme van de arteriën. Het E.C.G. een links type. De urine bevat geen eiwit, het sediment geen

afwijkingen. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 350 mgr. per L. De Urea-Clearance is 71%. Het specifieke cholinesterase is 336 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase is 258 mm³ CO₂ (te hoog).

Mej. N., 69 jaar oud, heeft sinds 2 jaar suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 160/110. Haar oogfundus toont geen bijzonderheden. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. De stofwisseling is + 52%. Het cholesterinegehalte van haar bloed is 2,5 o/oo. De urine bevat geen eiwit. In het sediment zijn 6—10 leucocyten per gezichtsveld aanwezig. Het S.G. bedraagt 1024. Het specifieke cholinesterase is 352,8 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase bedraagt 179,2 mm³ CO₂.

Mej. W., 68 jaar oud, heeft een bloeddruk van 225/115, haar stofwisseling bedraagt + 33%, het cholesterine gehalte van haar bloed 2,4 o/oo. Haar oogfundus toont in het R. oog een bloedinkje. Haar urine bevat geen eiwit. haar sediment bevat een sporadische leucocyt, het S.G. is 1023. Het specifieke cholinesterase bedraagt 308 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase is 180 mm³ CO₂.

Mej. E., 54 jaar oud, heeft al jaren suikerziekte. Haar bloeddruk is 200/100. Haar E.C.G. laat een linksoverweging zien, met een negatieve T₁. Het cholesterine gehalte van haar bloed bedraagt 3,92 o/oo. Haar basale stofwisseling is + 41%. De urine bevat geen eiwit, het sediment toont geen afwijkingen. Het S.G. bedraagt 1023. Het ureumgehalte van haar bloed is 550 mgr. per L. Het specifieke cholinesterase gehalte bedraagt 294,4 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase gehalte is 218,6 mm³ CO₂.

Mej. J., 63 jaar oud, suikerziekte heeft een bloeddruk van 250/120. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. De oogfundus toont rechts een retinitis. Het cholesterine gehalte van haar bloed is 2,2 o/oo. De basaal-stofwisseling is + 21%. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 300 mgr. per L. De urine bevat een spoor eiwit, het sediment heeft geen afwijkingen. Het S.G. is 1025. Het specifieke cholinesterase gehalte is 336 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase gehalte is 265 mm³ CO₂ (te hoog).

Mej. B., 61 jaar oud, heeft al jaren last van hoofdpijn, vooral achter de ogen. Haar bloeddruk is 200/110. Haar pols heeft 76 slagen per minuut. Het hart is iets naar links gedilateerd, de A₂ is geaccentueerd. Haar longen tonen geen bijzonderheden. De lever is even palpabel. De oogfundus laat spastische vaten zien. Het E.C.G. toont een linksvorm met een negatieve T₁. De basaalstofwisseling is + 18%. Het cholesterine gehalte van haar bloed is 2,2 o/oo. Haar urine bevat geen suiker, het sediment toont geen afwijking. De Urea-clearance (Van Slyke) is 72%. Het specifieke cholinesterase gehalte is 304 mm³ CO₂. Het pseudo-cholinesterase gehalte is 223 mm³ CO₂ (te hoog).

Mej. K., 62 jaar oud, heeft een bloeddruk van 230/150. De art. brachialis is verhard en geslingerd. Sinds April '47 heeft ze veel angineuze klachten. Last van hartkloppingen. Geen dikke voeten. Ze hoest niet, geeft niet op. Geen nycturie, wel snel dysnoeisch. De linker grens van haar hart reikt tot in de voorste axillairlijn. De A₂ is geaccentueerd. Aan

de punt en de pulmonalis heeft zij een systolische soufflé, aan de punt is een galoprythme te horen. Haar ogen tonen geen bijzonderheden. De lever is 1—2 vingers palpabel, en heeft een vaste rand. Aan de extremiteiten heeft zij geen oedemen. Het E.C.G. toont een depressie van ST_1 en ST_2 met een negatieve T_1 en een diphasische T_2 . Verder toont het een linker type, en enige boezemextrasystolen. De Röntgenfoto laat een sterke aorta-configuratie zien, met een zeer forse linker ventrikel. De aorta is geëlongeerd. De urine bevat een spoor eiwit met in het sediment een sporadische leucocyt. De urobiline reactie is negatief. De oogfundus laat kleine bloedinkjes zien. Het Ureumgehalte van haar bloed bedraagt 420 mgr. per L. Het specifieke cholinesterase is $324 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $2,96 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (veel te hoog).

Mej. E., 66 jaar oud, heeft sinds 4 jaar veel angineuze klachten, is gauw kortademig, nycturie 2 maal. 's Avonds heeft ze altijd dikke voeten. Ze hoest weinig, geeft niet op. In Mei 1947 heeft ze een hartinfarct gehad. De art. brachialis is verhard en geslingerd. De bloeddruk bedraagt 245/110. Het hart is iets naar links gedilateerd met een systolische soufflé aan de punt en de aorta, met een geaccentueerde A_2 . De lever is 1 vinger palpabel, heeft echter geen vaste rand. De halsaders zijn niet gestuwd. Aan de extremiteiten heeft zij geen oedeem. De Röntgenfoto van haar hart laat een flinke aortaknop zien, met een sterk geëlongeerde aorta. De urine bevat een spoor eiwit. In het sediment is een sporadische korrelcylinder aanwezig. De Urea-clearance (Van Slijke) bedraagt 62,6%. De Rowntree is 63%, het ureumgehalte van het bloed is 275 mgr. per L. Het E.C.G. laat een ST daling zien in CF_2 — CF_5 met lage T-toppen. De Wassermann-reactie is negatief. Het cholesterine gehalte van het bloed bedraagt 3,2 o/oo. Het specifieke cholinesterase gehalte is $348 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte is $224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. B., 34 jaar oud, is sinds 1 jaar moe bij inspanning. Geen hoofdpijn, geen hartkloppingen of duizeligheid. Haar bloeddruk bedraagt 265/160. Ze heeft verder een sterke flushing skin, haar glandula thyreoidea is niet vergroot. Haar pols telt 80 slagen per minuut. Het hart is niet vergroot. De A_2 is luider dan de P_2 . De lever is duidelijk vergroot, en toont meerdere tumoren. Het E.C.G. laat een linksvorm zien met een vlakke T_1 en een negatieve T_3 , de R is kleiner dan 2 mm. De urine bevat geen eiwit en heeft geen sediment afwijkingen. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 300 mgr per L. De basaalstofwisseling is $+ 0,6\%$. Het cholesterine gehalte van haar bloed is 2,22 o/oo. De oogfundus laat spastische arteriën zien. Het specifieke cholinesterase bedraagt $302 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $123 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (dit lage getal kunnen wij verklaren door de sterke leverfunctie stoornis, die patiënte had. De galactose proef was sterk gestoord: meer dan 5 gr. in 24 uur).

Mej. W., 68 jaar oud, heeft jaren suikerziekte. De laatste tijd veel hoofdpijn, geen dyspnoe d'effort, dikke benen of nycturie. Haar bloeddruk bedraagt 275/170. Het hart is naar links gedilateerd. De A_2 is geaccentueerd. Haar longen tonen geen afwijkingen. De lever is niet palpabel. Oedemen heeft de patiënte niet. Het E.C.G. toont een links vorm. De

oogfundus is normaal. De urine bevat een spoortje eiwit, zonder sediment afwijkingen. Het S.G. is 1021. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 320 mgr. per L. Het specifieke cholinesterase gehalte is $324 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $207 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. B., 70 jaar oud, heeft ook suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 240/140. De art. brachialis is verhard en geslingerd. Het hart is naar links gedilateerd, de A_2 is geaccentueerd. Aan de punt en aan de aorta heeft zij een systolische soufflé. De lever is even palpabel. Oedemen heeft patiente niet. De urine bevat geen eiwit en heeft ook geen sediment afwijkingen. Het E.C.G. toont een linksvorm. De oogfundus laat spastische arteriën zien met een verbrede reflex. Haar urine concentratie komt tot 1023. Het cholestherine gehalte van haar bloed bedraagt 3,3 o/oo. Haar basaal stofwisseling is $+ 45\%$. Het specifieke cholinesterase gehalte is $436,8 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog). Het pseudo-cholinesterase is $201 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, na 10 weken bedroeg het specifieke cholinesterase $368 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ en het pseudo-cholinesterase $211 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. De tensie bedroeg toen 170-100.

Mej. H., 70 jaar oud, diabetes mellitus, heeft een bloeddruk van 240/120. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. De oogfundus toont retinitis hardjes plus bloedingen. De basale stofwisseling is $- 25\%$. Het cholestherinegehalte van haar bloed bedraagt 2,63 o/oo. De urine bevat geen eiwit, in het sediment is een sporadische leucocyt aanwezig. Het S.G. is 1023. Het specifieke cholinesterase gehalte is $324 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $168 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. J., 60 jaar oud, heeft ook suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 260/105. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. Haar oogfundus toont rechts vaatsclerose. De urine bevat geen eiwit. Het sediment toont geen bijzonderheden. Het ureumgehalte van het bloed bedraagt 300 mgr. per L. De Urea-clearance (van Slijke) is 64% . Het specifieke cholinesterasegehalte is $364 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte is $162,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. G., 63 jaar, lijdende aan diabetes mellitus heeft een tensie van 240/140. Het E.C.G. toont geen bijzonderheden. De oogfundus laat enkele kleine bloedinkjes zien. Het cholestherine gehalte van haar bloed is 2,3 o/oo. De basale stofwisseling bedraagt $+ 21\%$. De urine bevat geen eiwit, het sediment heeft geen afwijkingen. De Rowntree is 75% . Het specifieke cholinesterase gehalte is $357,6 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte is $162,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Hr. van S., 70 jaar oud, heeft last van pijn in de benen bij het lopen, staat hij even stil, dan zakt het. Zijn bloeddruk bedraagt 200/130. Het E.C.G. laat een W-vormig QRS₃ zien. Zijn oogfundus heeft een brede vaatreflex. De basaal stofwisseling bedraagt $+ 37\%$. Het cholestherinegehalte van zijn bloed is 2,6 o/oo. Zijn urine bevat geen eiwit, z'n sediment toont geen bijzonderheden. De Urea-Clearance (Van Slijke) is 68% . Het S.G. van de urine is 1023. Het specifieke cholinesterase gehalte is $425,6 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte is $238 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (aan de hoge kant).

Mej. K., 70 jaar oud, heeft een bloeddruk die wisselt van 180/120 tot 155/80. Haar E.C.G. laat een linksvorm zien. De art. brachialis is verhard en geslingerd. Het cholestherinegehalte van haar bloed is 1.6 o/oo. De urine bevat een spoor eiwit. In het sediment is een sporadische leucocyt aanwezig. De Urea-clearance (Van Slijke) is 67%. Het S.G. der urine bedraagt 1023. Het specifieke cholinesterase gehalte is $302 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. C., 62 jaar, heeft een bloeddruk van 190/110. Haar E.C.G. laat een linksvorm zien. Haar oogfundus toont enige vaatsklerose. Het cholestherinegehalte van haar bloed bedraagt 2,96 o/oo. De basale stofwisseling is $+ 15 \%$. Haar urine bevat geen eiwit, het sediment is zonder afwijkingen. Het ureumgehalte van haar bloed bedraagt 310 mgr. per L. Het S.G. der urine is 1025. Het specifieke cholinesterase gehalte is $324,8 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $225 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. K., 54 jaar oud, diabetes mellitus, heeft een bloeddruk van 195/110. Haar E.C.G. laat een sterke daling zien van de ST_1 . De stofwisseling bedraagt $+ 22\%$. Het cholestherine gehalte van haar bloed is 2,85 o/oo. Haar urine bevat geen eiwit, het sediment een sporadische leucocyt. Het S.G. der urine is 1021. Het ureumgehalte van haar bloed is 500 mgr. per L. Het specifieke cholinesterase gehalte is $336 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $195 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. K., 59 jaar oud, heeft al jaren suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 185/90. Het E.C.G. laat lage T-toppen zien. De röntgenfoto van het hart toont een flinke aortaknop. De oogfundus toont een vaatsclerose. Haar urine bevat geen eiwit, noch sediment-afwijkingen. De Urea-Clearance (Van Slijke) bedraagt 80,3 %. Het urine S.G. is 1025. Het specifieke cholinesterase gehalte is $324,8 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $201,6 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. P., 61 jaar oud, heeft al jaren lang diabetes mellitus. Haar bloeddruk bedraagt 200/105. Haar urine bevat nogal veel eiwit. Het sediment laat een sporadische erythrocyt zien. Haar oogfundus is niet te beoordelen vanwege een dubbelzijdige lenstroebeling. Het E.C.G. toont een linksvorm met een daling van ST_1 en een negatieve T_1 . Het S.G. van de urine is 1023, de Rowntree bedraagt 80%. Het specifieke cholinesterase gehalte is $330,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $246,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. S., 52 jaar oud, diabetes mellitus, heeft een bloeddruk van 250/120. Het E.C.G. laat een linksvorm zien met een negatieve T_1 . De Rowntree bedraagt 31%. Het urine S.G. is 1023. De urine bevat geen eiwit, noch sediment afwijkingen. De oogfundus toont een brede vaatreflex. Het specifieke cholinesterase is $364 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $274 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog).

Hr. de V., 60 jaar oud, heeft ook al jaren diabetes mellitus. Zijn bloeddruk bedraagt 180/110. Zijn oogfundus laat enige spasme van de vaten zien. Het E.C.G. toont een linksvorm. De basale stofwisseling is $+ 11\%$. Het cholestherine gehalte van zijn bloed is 2,3 o/oo. Zijn urine bevat geen

eiwit, noch sediment afwijkingen. Het S.G. er van is 1024 Het specifieke cholinesterase is $364 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. L., 53 jaar oud, heeft ook suikerziekte. Haar bloeddruk bedraagt 240/140. Haar oogfundus toont geen bijzonderheden. Het E.C.G. heeft een depressie van ST_1 , ST_2 , ST_3 . De urine bevat een spoor eiwit in het sediment zijn 10—15 leucocyten per gezichtsveld aanwezig. Het ureumgehalte van het bloed is 550 mgr. per L. Het S.G. van de urine is 1022. Het specifieke cholinesterase is $348 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $214 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. V., 53 jaar oud, heeft typische angineuze klachten, verder veel hoofdpijn met duizeligheid. Ze ziet goed. Heeft geen dyspnoe d'effort of dikke benen. Ze hoest wel eens wat bloed op. Haar bloeddruk bedraagt 175/110. De art. brachialis is verhard en geslingerd. Het hart is niet vergroot. Aan de punt en de aorta heeft ze een systolische soufflé. Haar longen tonen geen afwijkingen. De Röntgenfoto van het hart laat een flinke aortaknop zien met een iets forse hartfiguur. Haar oogfundus toont een geringe spasma van de arteriën. Haar lever is even palpabel. Aan de benen is een spoor oedeem aanwezig. Haar halsaderen zijn niet gestuwd. De Wassermann reactie is negatief. Haar E.C.G. heeft een depressie van ST_1 met een negatieve T_1 . Haar urine bevat geen eiwit noch sediment afwijkingen. Het S.G. er van is 1025. Het specifieke cholinesterase gehalte is $336 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $218,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. B., 49 jaar oud, heeft al jaren veel hoofdpijn. Geen dyspnoe d'effort. Ze hoest niet. Heeft geen dikke voeten. Ze ziet goed. Haar bloeddruk bedraagt 195/90. Haar hart is niet vergroot. De tonen zijn zuiver, Haar longen tonen geen afwijkingen. Haar lever is niet palpabel. De reactie van Wassermann is negatief. Haar urine bevat geen eiwit, noch sediment afwijkingen. Het specifieke cholinesterase gehalte is $352 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte is $140\text{—}148 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Hr. J., 40 jaar oud, heeft sinds 2 jaar pijn links op de borst bij inspanning, die na rust afzakt. De laatste tijd veel last van hartkloppingen. Hij hoest niet en geeft niet op. Wel dyspnoe d'effort, geen dikke voeten of nycturie. Zijn bloeddruk, bedraagt 190/120. Zijn hart is even naar links gedilateerd. De A_2 is geaccentueerd. De tonen zijn verder zuiver. Zijn longen tonen geen bijzonderheden. Zijn lever is even palpabel. Hij heeft geen oedemen of gestuwde halsaders. Zijn urine bevat geen eiwit of sediment afwijkingen. De reactie van Wassermann is negatief. Zijn basaal metabolisme is $+54\%$. Het cholesterine gehalte van zijn bloed bedraagt 2,6 o oo. De Rowntree is 88% . De intraveneuze pyelogrammen zijn normaal. De Coldpressor test is negatief. Zijn oogfundus toont geen bijzonderheden. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. Het specifieke cholinesterase is $372 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $268,8\text{—}265 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog).

MALIGNIE HYPERTENSIE.

Hr. S., 45 jaar oud, heeft sinds 2—3 jaar een drukkend gevoel in de hartstreek, loopt hij een kwartier, dan krijgt hij het. Na rust zakt het. Niet veel hoofdpijn, maar meer een drukkend gevoel rechts in de nek, geen dyspnoe d'effort, geen dikke voeten. Hij hoest niet en geeft niet op. Zijn bloeddruk bedraagt 260/130. Zijn art. brachialis is verhard en geslinderd. Zijn ictus cordis staat 2 vingers buiten de medio-claviculairlijn, met een systolische soufflé aan de punt en aan de aorta. De A_2 is geaccentueerd, zijn longen tonen geen afwijkingen. Zijn lever is 1 vinger palpabel, onder de ribbeboog en is drukgevoelig. Hij heeft geen oedemen. Zijn urine bevat zeer veel eiwit, in het sediment zijn zeer veel erythrocyten aanwezig. Het ureumgehalte van het bloed is 2,18 gr. per L. Het E.C.G. laat een linksvorm zien. Zijn oogfundus is een uitgesproken fundus hypertonicus met bloedinkjes, oedeem en zilverdraad arteriën, dubbelzijdige ablatio retinae. Patient heeft nu en dan eclamptieforme aanvallen. De liquordruk is licht verhoogd. De reactie van Nonne en Pandy is licht positief. Het specifieke cholinesterase gehalte is $308,2 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase gehalte $152 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Na enige dagen bedroeg het ureumgehalte van zijn bloed 4,1 gr. per L. Het specifieke cholinesterase gehalte was $308,2 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte was $182 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. F. V. N., 40 jaar oud, heeft sedert jaren veel last van hoofdpijn en vermoeidheid, kan haar werk niet meer doen, soms licht in het hoofd, ziet erg slecht. Gauw duizelig. Snel dyspnoeisch, veel hartkloppingen. De laatste maanden asthma cardiale aanvallen 's nachts. 's Avonds dikke voeten. Ze hoest niet en geeft niet op. 8 jaar geleden heeft zij een zwangerschapsnier gehad. Haar bloeddruk is hoger dan 260/180. Haar hart heeft een heffende ictus, die 1 vinger breed binnen de voorste axillairlijn staat, de A_2 is klappend. In haar longen zijn geen rhonchi te horen. Haar lever noch milt zijn palpabel. Haar urine bevat veel eiwit. In het sediment zijn veel leucocyten, erythrocyten en enige korrelcilinders aanwezig. De Röntgenfoto van het hart laat een aorta configuratie zien, met een verbreding van de hartfiguur naar links. De Urea-clearence (van Slijke) bedraagt 36%. De Rowntree 31%. Het ureumgehalte van het bloed is 665 mgr. per L. Het E.C.G. toont een linksvorm. De ST_1 en ST_2 zijn ruim 1 mm onder de isoëlectrische lijn. De T_1 en T_2 zijn negatief. De oogfundus heeft een papiloedeem met talrijke bloedingen, ook in de macula, terwijl de arteriën een sterke sclerose vertonen met een verbrede vaatreflex. Haar stofwisseling bedraagt + 68%. Het cholinesterine gehalte van het bloed is 2,98 o/oo. Het specifieke cholinesterase gehalte van haar bloed is $470,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (verhoogd). Het pseudo-cholinesterase van haar bloed is $145 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Vlak voor haar dood bedroeg het ureumgehalte van haar bloed 4,11 gr. per liter, het specifieke cholinesterase gehalte was nog steeds te hoog, en bedroeg nu 425—430 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase gehalte was nu sterk gedaald, en bedroeg slechts 68 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$. Het is bekend, dat sub

finem vitae de pseudo-cholinesterase activiteit sterk daalt; of de ureumverhoging hier ook nog een rol speelt is dubieus.

Mej. T., 52 jaar oud, heeft veel last van haar ogen, kan slecht meer zien, ook veel hoofdpijn en vaak misselijk. Nu en dan heeft zij aanvallen van duizeligheid. Zij hoest niet en geeft niet op. Ze is wel gauw dyspnoeisch. Dikke voeten heeft zij niet. Haar bloeddruk bedraagt 230/120. De art. brachialis is verhard, haar hart is naar links gedilateerd, met een geaccentueerde A_2 . Haar longen tonen geen afwijkingen. Haar lever of milt is niet palpabel. Het cholesterine gehalte van haar bloed bedraagt 3,1 o/oo. De basale stofwisseling is $+ 29\%$. Het E.C.G. laat een linker type zien, met een depressie van ST_1 . Haar oogfundus heeft papiloedeem met bloedingen, haar urine bevat veel eiwit, in het urine sediment zijn veel erythrocyten aanwezig. De Urea-Clearance (Van Slyke) is 42% . Het ureumgehalte van haar bloed bedroeg 800 mgr. per L. De urine concentratie kwam tot 1012. Het specifieke cholinesterase gehalte was $304 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase was $158 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

ACUTE NEPHRITIS.

Mej. A. W., 20 jaar oud, is 6 dagen geleden plotseling ziek geworden met pijn in het rechteroor. 2 dagen daarna was de oorpijn over. 's Avonds zette haar gezicht op. Ze had al opgemerkt, dat haar urine de hele vorige week al erg troebel was. Ze hoefde ook maar weinig te urineren. Keelpijn heeft ze nooit gehad, ook de laatste weken niet. Nu en dan had ze veel pijn in haar onderbuik en moest zij braken. Zij heeft een sterk oedeem aan het gezicht, hoofdzakelijk gelocaliseerd onder de oogleden. Haar bloeddruk bedraagt 240/160. Haar tonsillen zijn normaal. Het hart is even naar links gedilateerd, met een luide A_2 . Haar lever of milt zijn niet palpabel. Ascites heeft zij niet. Ook aan de benen heeft zij geen oedeem. Haar urine bevat zeer veel eiwit, het sediment zit stampvol erythrocyten. Verder heeft zij een hypochrome anaemie, (Hb 46%). Ureum 2 gr. per L. Chloor 96,3 mgr. equivalent per L. Alkali reserve 39,8 vol. $\%$. Oogfundus retinitis albuminurica, E.C.G.: ST_2 1 mm onder de iso-electrische lijn, T_1 diphasisch, T_3 iso-electrisch. Het specifieke cholinesterase is $324 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $265 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog). Enige dagen daarna was het ureumgehalte van haar bloed 1,70 gr. per L. Het pseudo-cholinesterase was nu $224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het specifieke cholinesterase $336 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (activering door het verhoogde ureum?).

HET SYNDROOM VAN PAGE.

Mej. D., 45 jaar oud, komt bij ons met nerveusheid en gejaagdheid, beklemd gevoel op de borst en veel last van hartkloppingen. In 1944 werd bij haar een strumectomie verricht, echter zonder resultaat. Haar glandula thyreoidia werd in 1945 nog eens bestraald. De polsfrequentie bedroeg 120 slagen per minuut, haar bloeddruk 150/85, ze had verder een sterke flushing skin, haar hals liet een litteken van de strumectomie zien. Haar hart was niet vergroot, maar had een systolische soufflé aan alle ostia. De longen toonden geen afwijkingen, haar lever of milt waren

niet palpabel, ze had duidelijk koude extremiteiten. De been-reflexen waren zeer hoog. Het cholesterine gehalte van haar bloed bedroeg 2,46%. De basale stofwisseling was + 34%, haar urine bevatte geen eiwit noch sediment afwijkingen. Hed S.G. was 1025. Het specifieke cholinesterase gehalte van haar bloed was 336 mm³ CO₂, het pseudo-cholinesterase gehalte was 168—172 mm³ CO₂.

Mej. M., 23 jaar oud, is sterk nerveus, ze zweet veel, kan slecht tegen de warmte, heeft toch steeds koude handen en voeten, veel opvliegingen, ze is sterk vermagerd. De bloeddruk bedraagt 170/115, haar polsfrequentie bedraagt 80 slagen per min. Ze heeft een sterke flushing skin met links een abducens parese, geen exophthalmus, haar glandula thyreoidea is niet vergroot, haar hart en longen tonen geen afwijkingen, de lever of milt zijn niet te voelen. Zij heeft ook hoge reflexen. Het cholesterine gehalte van haar bloed bedraagt 2,6 o/oo, de basaalstofwisseling is + 25%. De glucose belastings curve toont na 2½ uur een hypoglycaemische waarde. S.G. urine 1022. Haar urine bevat geen eiwit, noch sediment afwijkingen. Het specifieke cholinesterase gehalte bedraagt 324 mm³ CO₂, het pseudo-cholinesterase is 179 mm³ CO₂.

Mej. S., 39 jaar oud, heeft men altijd voor een hyperthyreoidie gehouden. In 1935 werd bij haar een strumectomie verricht, waarop haar klachten: gejaagdheid, prikkelbaarheid, sterk transpireren, vermageren niet-tegenstaande veel eten etc. totaal niet reageerden. Wij vonden een magere nerveuse vrouw. Haar bloeddruk bedroeg 180/110, zij had geen Basedow-oogsymptomen. Haar pols was 84 regulair en aequaal. Haar hals liet een litteken van de strumectomie zien. Zij had verder een sterke flushing skin. Haar longen hadden geen afwijkingen, haar hart was niet vergroot, haar lever noch milt waren palpabel. Haar basaalmetabolisme was + 54%, het cholesterine gehalte van haar bloed was 2,18 o/oo, haar Urea-Clearance bedroeg 72% haar urine bevatte geen eiwit, in het sediment was een enkele leucocyt aanwezig. Op prominal daalde haar stofwisseling tot + 25%. Het pseudo-cholinesterase was 214 mm³ CO₂, het specifieke cholinesteras was 330,4 mm³ CO₂.

Mej. B., 33 jaar oud, heeft sinds een jaar veel last van zweten, is ook gauw moe, veel last van de warmte, is gaarne in koele omgeving, wel gauw koude voeten, zelden hoofdpijn. Ze slaapt moeilijk in, haar ontlasting is normaal. Op een prostrumylkuur nam haar gewicht toe, ze voelde zich zelfs goed. De stofwisseling was mooi gedaald van + 76% tot normaal. Later is ze weer minder geworden, weer gejaagd, prostrumyl hielp niet meer. Ze hoest niet of geeft niet op. Haar tensie bedroeg 170/95. De pols had 120 slagen in de minuut, aan de vingers had ze een flinke tremor, geen Basedow-oogsymptomen. De rechter kwab en de isthmus van de glandula thyreoidea voelen wat vast aan, in de rechter kwab zit een klein hard knobbeltje ter grootte van een knikker. Haar hart is niet vergroot, aan de aorta en de pulmonalis heeft zij een systolisch souffletje, haar A₂ is geaccentueerd. Haar longen hebben geen afwijkingen, haar lever of milt zijn niet palpabel. Het cholesterine gehalte bedraagt 1,4 o/oo, de basaal stofwisseling is + 82%, het E.C.G. laat liggend een negatieve T₃ zien.

Patient	Leeftijd	Diagnose	Hart	Arteria Brach.	Tensie	Choles- terine
Mej. K.	54 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard en geslingerd	195-110	2,85 o/o
Mej. K.	59 j.	diab. mell.	n. links gedil. systiol. souffle a. punt en aorta luide A ₂	verhard en geslingerd	185- 90	—
Mej. S.	52 j.	diab. mell.	luide A ₂	—	250-120	3,57
Mej. P.	61 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard en geslingerd	200-105	3,44
Hr. d. V.	60 j.	diab. mell.	—	iets verhard	180-110	2,30
Mej. L.	53 j.	diab. mell.	luide A ₂	iets verhard	240-140	—
Mej. H.	70 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard en geslingerd	240-120	2,63
Mej. J.	60 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard en geslingerd	260-105	—
Mej. G.	63 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard	220-140	2,30
Hr. S.	70 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard	200-120	2,60
Mej. K.	70 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard	180-120	1,60
Mej. C.	62 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard	190-100	2,96
Mej. B.	34 j.	hypertensie, tumor links in Hepar.	A ₂ luider dan P ₂	geen b.	275-160	2,22
Mej. K.	45 j.	diab. mell.	luide A ₂ n. links gedilat.	verhard	275-170	—
Mej. B.	70 j.	diab. mell.	ictus 1 vinger buit. M. Cl- lijn A ₂ geacc. syst. souffle aan punt en aorta	verhard en geslingerd	240-140	3,33

B.M.	E.C.G.	Fundus Oculi	Urine	Nierfunctie	Cholinesterase Spec. Pseudo-	
+ 22 %	daling ST ₁	—	alb. — sed. sporad. Leuco	ureum 500 mgr. p. l. s.g. urine 1021	336	185
—	lage toppen, verhoogd ST ₃	sclerose	alb. — sed. g.a.	v. Slijke 80.3 % s.g. urine 1025	324,8	201,6
+ 22 %	linksvorm negat. T ₁	verbrede vaatreflexen	alb. — sed. g.b.	s.g. urine 1023 Rowntree 31 %	364	274
+ 21 %	negat. T ₁ daling ST ₁	—	alb. + + + sed. g.b.	Rowntree 80 % s.g. urine 1023	330,4	246,4
+ 11 %	linksvorm	spasme	alb. — sed. g.a.	s.g. urine 1024	364,0	224,0
—	depressie ST ₁ ST ₂ ST ₃	geen bijz.	alb. — sed. 10—15 Leuco's	s.g. urine 1022 ureum 550 mgr. p. l.	348,0	214,0
+ 25 %	linksvorm	retinitis haardje en bloedingen	alb. — sed. g.a.	s.g. urine 1023	324,0	168,00
—	linksvorm	vaatscler.	alb. — sed. g.a.	v. Slijke 64 % ureum 300 mgr. p. l.	364,0	162,4
+ 21 %	geen bijz.	kl. bloedingen	alb. — sed. g.a.	Rowntree 75 %	357,6	162,4
+ 37 %	W-vormig QRS ₃	brede vaatrefl.	alb. — sed. g.b.	v. Slijke 68 % s.g. urine 1023	425,6	238,0
+ 20 %	linksvorm	sclerose	neg. alb. sp. sed. g.b.	v. Slijke 67 % s.g. urine 1023	302,0	224,0
+ 15 %	linksvorm	vaatscler.	alb. — sed. g.b.	s.g. urine 1025 ureum 300 mgr. p. l.	324,8	225,0
+ 0,6 %	linksvorm vlakke T ₁ neg. T ₃	spastische arteria	geen bijz.	ureum 300 mgr. p. l. s.g. urine 1025	302	123,0
—	linksvorm	geen bijz.	alb. $\frac{+}{+}$ sed. g.b.	s.g. urine 1021	324,0	207,0
+ 43 %	linksvorm	sclerose	alb. neg. sed. g.b.	s.g. urine 1023 na tien weken	436,8 368	201 211

Patient	Leeftijd	Diagnose	Hart	Arteria Brach.	Tensie	Chole- terin
Mej. B.	33 j.	page	systol. souffle a. aorta, A ₂ geacc.	geen bijz.	170- 95	1,40
Mej. K.	68 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard	200-120	2,63
Mej. S.	73 j.	diab. mell.	g. a.	—	250-120	3,57
Mej. H.	65 j.	diab. mell.	g. a.	—	225-100	2,56
Mej. B.	64 j.	diab. mell.	g. a.	verhard	250-110	2,77
Mej. D.	50 j.	diab. mell.	luide A ₂ syst. souffle a. punt en aorta	verhard en geslingerd	240-140	2,20
Hr. N.	69 j.	diab. mell.	g. a.	—	160-110	2,50
Mej. W.	68 j.	diab. mell.	luide A ₂	—	225-115	2,40
Mej. E.	54 j.	diab. mell.	g. a.	—	200-100	3,92
Mej. J.	63 j.	diab. mell.	luide A ₂	verhard en geslingerd	250-120	2,20
Mej. R. v. N.	40 j.	mal. hypertens.	n. links gedi- lat., klapp. A ₂	verhard	260-180	2,98
Mej. M.	29 j.	essent. hypertens.	n. links gedi- lat., A ₂ geacc.	geen bijz.	275-165	—
Mej. J.	40 j.	essent. hypertens.	n. links gedi- lat., A ₂ geacc.	geen bijz. na twee weken Prostigmine	215-145 205-145	2,30

B.M.	E.C.G.	Fundus Oculi	Urine	Nierfunctie	Cholinesterase Spec. Pseudo-	
+ 32% — 50 %	geen bijz.	—	alb. — sed. g.b.	s.g. urine 1022	330,4	168
+ 0 %	linksvorm	geen bijz.	alb. — sed. g.b.	v. Slijke 64 %	336,0	280,0
+ 22 %	linksvorm T ₁ neg.	gekronk. arteria	alb. spor. sed. g.a.	Rowntree 34 % s.g. urine 1021	364,0	190,0
+ 28 %	linksvorm	lenstroebel.	alb. — sed. g.b.	ureum 450 mgr. p. l. s.g. urine 1021	336,0	263,0
+ 26 %	neg. T ₁ vlakke T ₂ linksvorm	geen bijz.	alb. spor. sed. g.a.	—	302,0	222,0
+ 0 %	linksvorm	spasme der vaten	alb. — sed. g.a.	v. Slijke 71 % ureum 350 mgr. p. l.	336,0	257,0
+ 52 %	linksvorm	geen afw.	alb. — sed. 6—10 Leuco's P.G.V.	s.g. urine 1024	352,3	179,2
+ 33 %	linksvorm	rechter bloedinkje	alb. spor. sed. spor. Leuco	s.g. urine 1023	308,0	180,0
+ 41 %	linksvorm neg. T ₁	—	alb. — sed. g.b.	s.g. urine 1023 ureum 550 mgr. p. l.	294,4	218,6
+ 21 %	linksvorm	rechts retinitis	alb. spor. sed. g.a.	ureum 300 mgr. p. l. s.g. urine 1025	336,0	265,00
+ 68 %	sterk. depr. ST ₁ ST ₂ T ₁ T ₂ neg.	papil oedeem + bloedingen	alb. + sed. veel erythr. leuco. korrelcyl.	Rowntree 31 % ur. 0,665) gr. ur. 4,190) p. l. (sub finem vitae)	470,4 425,6 430	145,0 68
+ 28 %	vlakke T toppen	1 bloedinkje rechteroog	alb. — sed. g.b.	Rowntree 63 % v. Slijke 59 % s.g. urine 1023	336	212
+ 6 %	link. type neg. T ₃	links 1 bloedinkje	sed. ery- throcyten	v. Slijke 85 % na twee weken Prostigmine	448/452 260	163 165

Patient	Leeftijd	Diagnose	Hart	Arteria Brach.	Tensie	Chole- sterin
Mej. B.	61 j.	essent. hypertens.	n. links gedi- lat., A ₂ geacc.	verhard	200-110	2,20
Mej. T.	43 j.	malig. hypertens.	A ₂ geacc.	verhard	270-120	3,10
Hr. F.	20 j.	isthm. stenose	A ₂ geacc.		180-100	
Mej. F.	79 j.	essent. hypertens.	n. links gedi- lat., A ₂ geacc.	verhard	185- 90	2,98
Mej. F.	25 j.	myasthenie				
Hr. M.	54 j.	asthma bronchiale	sterk asthmatisch			
Mej. A.	33 j.	asthma bronchiale	asthmatisch			
Hr. B.	54 j.	asthma bronchiale	sterk asthmatisch			
Mej. Y.	42 j.	asthma bronchiale	sterk asthmatisch			
Mej. K.	28 j.	asthma bronchiale	sterk asthmatisch			
Mej. A.	40 j.	asthma bronchiale	sterk asthmatisch			

B.M.	E.C.G.	Fundus Oculi	Urine	Nierfunctie	Cholinesterase	
					Spec.	Pseudo-
+ 18 %	linksvorm neg. T ₁	spasme der vaten	alb. — sed. g.b.	v. Slijke 73 %	304	235
+ 29 %	linksvorm depr. ST ₁ link. type	papiloedeem	alb. ++ sed. erythr.	v. Slijke 42 %	304	158
			alb. — sed. g.b.		302	172
	diph. T ₁ T ₂ T ₃	spasme der vaten	alb. — sed. g.b.	v. Slijke 63 % Rowntree 89 % s.g. urine 1023	324	168
					392	207
				na Prostigmine	347	194
	R. vorm		uitstekende toestand		470,2	
					296,8	260
					302,4	214
					425/470	224
						benzoyl choline
					324,8	214
					336,2	196
					304	214

De glucose belastingen curve is normaal, haar urine bevat geen eiwit noch sediment afwijkingen, het S.G. is 1023. Op prominal en broom zakte haar stofwisseling tot $- 31\%$. Ze werd echter steeds dikker. Haar lumbaalvocht was helder, bevatte geen eiwit, noch cellen, de druk was normaal. Het specifieke cholinesterase gehalte van haar bloed bedroeg $330,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase gehalte $168 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Heer N., 18 jaar oud, is het laatste jaar gauw moe. Bij inspanning heeft hij snel hoofdpijn en bonzen van de slapen, eetlust zeer goed, transpireert niet veel, niet vermagerd of dikker geworden. Hij hoest niet en geeft niet op. Zijn bloeddruk bedroeg 155/80, zijn pols telde 112 slagen in de minuut, zijn ogen vertoonden geen bijzonderheden. Zijn hart was niet vergroot, de tonen waren zuiver. Zijn longen toonden geen afwijkingen. Zijn lever was even palpabel, een vinger breed onder de ribboog. Het basaalmetabolisme was $- 24\%$, het cholesterine gehalte van zijn bloed was 1,45 o/oo, zijn E.C.G. liet een negatieve T_3 zien, die niet reageerde op gynergeen. Hij had wel een sterke dermatographie. Zijn bloedsuiker curve liet na $2\frac{1}{2}$ uur een hypoglycaemische waarde zien. Zijn urine bevatte geen eiwit, noch sediment afwijkingen, de urobiline reactie was positief. Het S.G. van de urine was 1017. Het specifieke cholinesterase gehalte was 336 tot 332 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase gehalte van zijn bloed was 168—172 $\text{mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. H., 15 jaar oud, is sinds $1\frac{1}{2}$ jaar snel moe, ze heeft 's nachts een benauwd gevoel bij het ademen, ze zweet veel en is driftig en gejaagd, ze bloost ook snel, kan beter tegen de kou dan tegen de warmte, haar eetlust is goed, ze is niet vermagerd, integendeel, ze vindt zich zelf veel te dik, geen diarrhoe. Haar armen en benen zijn blauwachtig van kleur, ze heeft veel last van hartkloppingen, ze hoest niet en geeft niet op. Ze heeft geen mictie klachten, haar menses zijn zeer profuus, patiënte is voor haar leeftijd zeer fors en veel te dik, de vetverdeling is gelijkmatig over het lichaam verdeeld. Ze heeft een sterk rode gelaatskleur en een typische flushing skin. Haar extremiteiten zijn sterk cyanotisch, maar voelen toch vochtig warm aan. In de buikflanken heeft zij veel striae, haar pols telt 120 slagen in de minuut. Haar bloeddruk is 200/120, zij heeft verder een lichte exophthalmus en glansogen, overigens geen Basedow tekenen. Haar glandula thyreoidea is tamelijk vast, diffuus iets vergroot met een frémissement, haar hart is niet vergroot aan de pulmonalis heeft zij een functionele systolische soufflé, haar longen tonen geen afwijkingen. Haar lever of milt zijn niet palpabel. Aan de vingers heeft zij een grove tremor, aan het nagelbed heeft zij een capillairpols, haar glucose belastingen curve is vlak, het cholesterine gehalte van haar bloed bedraagt 1.77 o/oo, de basaal stofwisseling was $+ 39\%$. Het E.C.G. liet een diepe S_1 zien met grote uitlagen, het ureumgehalte van haar bloed bedroeg 520 mgr. per liter, de urine concentratie was 1034, haar urine bevatte geen eiwit, noch sediment afwijkingen. De intraveneuse pyelogrammen waren normaal, met prostrumyl kregen wij geen verlaging van de stofwisseling, eerst op prominal daalde deze tot normale waarden. Het specifieke cholinesterase gehalte was $364 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase bedroeg $297 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. In navolging met

de onderzoeken van Libbrecht hebben wij haar, omdat ze een duidelijk verhoogd pseudocholinesterase gehalte van haar bloed had, een halve mgr. adrenaline subcutaan gegeven. Haar bloeddruk die onder-tussen gedaald was tot 155/85, steeg reeds na tien minuten tot 205/85, haar pols liep op, van 92 tot 120 slagen per minuut. Zij kreeg ook een duidelijke leucocytose met lymphocytose, die reeds optrad een kwartier na de inspuiting.

ASTHMA BRONCHIALE.

Heer M., 60 jaar oud, heeft al jaren lang aanvallen van benauwdheid, het piept dan sterk op zijn borst, nu en dan moet hij veel opgeven, het is echter nooit etterig. Zijn bloeddruk is 140/80, zijn thorax staat in expiratie stand en wordt maar weinig bewogen, de long-lever grens staat laag en verschuift weinig, ook de achtergrenzen staan laag en verschuiven zeer matig, het expirium is verlengd en piepend. Zijn hart heeft maar een kleine percussie figuur (geen relatieve damping), de tonen zijn zuiver. Zijn sputum bevat geen flora, alleen maar eosinophiele leucocyten. Zijn E.C.G. toont een rechts vorm. De allergenen test ook op schimmels is negatief. Patient is zeer benauwd. Het specifieke cholinesterase bedraagt $470,2 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog). Het pseudo-cholinesterase is $260 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (ook te hoog). Na enige maanden is patient weer in een voortreffelijke algemene toestand, hij is sinds enkele maanden niet meer benauwd geweest. Het specifieke cholinesterase bedraagt nu $296,8 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, terwijl het pseudo-cholinesterase hetzelfde gebleven is en wederom $260 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ is.

Heer B., 61 jaar oud, heeft vroeger een tuberculeus longproces door-gemaakt, waarvoor hij links een thoraco plastiek heeft gekregen. De laatste twee jaar heeft patient aanvallen van benauwdheid gekregen, opgeven doet hij niet veel. Zijn bloeddruk bedraagt 105/85. Zijn longen zitten vol bronchitische geruisen, de linker grens verschuift niet, links hoort men in toto zeer zwak ademen, de rechter grens verschuift maar matig, het expirium is sterk verlengd. Zijn hart is iets naar links vertrokken, is echter niet vergroot, de tonen zijn zuiver. Zijn lever is even palpabel. In zijn sputum zijn practisch niets dan eosinophiele leucocyten aanwezig. In het bloed heeft hij er 7%. Het specifieke cholinesterase bedroeg op verschillende dagen, terwijl patient steeds sterk benauwd was 470, 420 en $425 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (veel te hoog). Het pseudo-cholinesterase was $224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (met benzoylcholine).

Mej. A., 40 jaar oud, heeft al als kind asthma-aanvallen, ze is nu en dan flink benauwd. Haar bloeddruk bedraagt 105/70. Haar hart is niet vergroot, de tonen zijn zuiver. In haar longen hoort men een verlengd expirium met veel piepende rhonchi. De allergenentest is negatief. Haar sputum bevat voor 85% eosinophiele leucocyten. Het specifieke cholinesterase bedroeg $302,4 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$, het pseudo-cholinesterase $214 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Mej. J., 42 jaar oud, heeft vanaf haar twaalfde jaar een asthma bronchiale. Haar tensie bedraagt 135/70. Haar hart is niet vergroot, de tonen zijn zuiver. In haar longen hoort men een verlengd, piepend expirium, de grenzen staan nog niet laag. Haar E.C.G. laat een recht vorm zien. Haar sputum bevat voor 85% eosinophile leucocyten. Het specifieke cholin-

Mej. K., 28 jaar oud, is vanaf haar kindsdagen reeds asthmatisch. Ze hoest niet veel, geeft nu en dan wat op. Haar bloeddruk bedraagt 115/85. Haar hart is niet vergroot de tonen zijn zuiver. Haar longen hebben een verlengd expirium met piepende rhonchi, haar E.C.G. toont geen bijzonderheden. Haar sputum bevat zeer veel eosinophile leucocyten, echter geen flora. Het specifieke cholinesterase bedraagt $324 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Het pseudo-cholinesterase is $196 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

MYASTHENIE.

Ik was in de gelegenheid, dank zij de hulp van de neurologische kliniek, om bij een patiente met een myasthenie voor en na de therapie het specifieke en pseudo-cholinesterase te bepalen.

Mej. F., 26 jaar oud, staat al jaren bekend als myasthenica, zij gebruikt 5 tabletten van 15 mgr. prostigmine per dag. Wij hebben patiente 4 dagen geen therapie gegeven. Zij begon toen te klagen over dubbel zien met wazige beelden, moeilijkheden met slikken. Het duurde wel een half uur voordat zij een sneetje brood op had. Ze voelde zich ook moe en krachteloos. Bij onderzoek viel op dat ze zeer wijde pupillen had en zeer snel vermoeibaar was (spieren van de armen). Het specifieke cholinesterase bedroeg toen $392 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (te hoog) en het pseudo-cholinesterase $207 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$. Wij hebben haar toen weer prostigmine gegeven. Ze kon toen goed eten, ze zag scherp zonder dubbelbeelden, de pupillen waren weer normaal van grootte geworden en ze voelde zich weer tot alles in staat. Het specifieke cholinesterase was nu $347 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$ (dus, volkomen normaal), het pseudo-cholinesterase bedroeg nu $194 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$.

Dit ene onderzoek is nu wel niet bewijzend voor de theorie dat het specifieke cholinesterase bij de myasthenie te hoog is, maar toch, gezien alle theorieën tot nu toe over de werking van de prostigmine en van het kwalitatief te actieve cholinesterase verre van bevredigend zijn, is dit misschien wel een argument om te veronderstellen, dat het inderdaad het specifieke cholinesterase is, wat bij deze patienten te hoog is, waardoor we een te snelle acetylcholine-hydrolyse krijgen.

HOOFDSTUK V

Het Cholinesterase bij verschillende ziekten

Hicks en Mc Kay (134) vonden in 1936 bij de myopathiën en myasthenie een verhoogd serum-cholinesterase; Stedman en Russell (129) ook Pichler vonden erechter een verlaagd cholinesterase bij. Jones en Stadie, Wilson en Stoner (1944) vonden het echter normaal. Bij de myotoniën vonden Poncher en Wade ook normale cijfers. Haguenau, Lefebvre en Kaufman zagen echter lage serum-cholinesterase bij de myotonie van Thomson (135).

Passouant vond een verlaagde waarde bij 2 myotoniën, terwijl bij de spier-biopsie teveel acetylcholine in de spieren gevonden werd.

Bij de ziekte van Parkinson ontdekte Yokati een verlaagd serum-cholinesterase, terwijl Pichler niets abnormaals kon vinden. Onlangs heeft Kaswin (126) daarentegen weer verhoogde cholinesterasewaarden bij deze ziekte gezien.

Bij de manifeste tetanie (132) vonden G. Segouzac, De Prat en P. Brygo een sterk verlaagd serum-cholinesterase, terwijl bij de latente tetanie en bij die vorm, die door hyperventilatie opgewekt kon worden, steeds normale waarden verkregen werden.

Faber (1943) toonde aan, dat het serum-cholinesterase gevormd wordt in de lever. De aandoening van het leverparenchym brengt steeds een gedeeltelijke inactivering van het serum-cholinesterase met zich mee en deze enzymmatische remming hangt af van de ernst van de leverbeschadiging. De variaties van het serum-cholinesterase bij leverziekten zijn bestudeerd door een groot aantal auteurs (Antopol (129), Shifrin (130) en Tuchman, 1937/1938, Mc Ardle 1940, Pirolli 1941, Schaller (133) 1942, Vincent en Sero (127) 1942, Rumma en Sibul (35) 1943, Fiessinger en Glomand 1945) (127). Hieruit bleek, dat:

- a. bij parenchymbeschadiging van de lever het serum-cholinesterase sterk daalt en dat er een zeer zwakke remming van het cholinesterase in de rode bloedlichaampjes optreedt;
- b. dat het serum-cholinesterase een betrouwbaarder criterium is voor een leverbeschadiging dan het erythrocyten-cholinesterase, dat meer met het beenmerg in verband zou staan; (24)
- c. dat de daling van het serum-cholinesterase gelijke tred houdt met de sterkte van de leverbeschadiging. De laagste waarden worden bij gedecompenseerde cirrhosen gevonden; minder sterke daling vindt men bij de icterus catarrhalis;
- d. dat de icterus catarrhalis slechts een daling van het serum-cholinesterase veroorzaakt bij een sterke parenchym-beschadiging van de lever;

- e. dat bij obstructie-icterus (in tegenstelling met de bevindingen van Antopol) de waarden van het serum-cholinesterase slechts zelden veranderd zijn. Deze daalt pas, als de galstuwung een leverbeschadiging veroorzaakt heeft;
- f. dat de symptomen van vagotonie bij een hepatitis kunnen toegeschreven worden aan de daling van het serum-cholinesterase en dat daardoor een hyperactiviteit van het acetylcholine zou bestaan (volgens onze opvattingen over het pseudo-cholinesterase lijkt deze veronderstelling volkomen onjuist);
- g. dat men door het serum-cholinesterase te bepalen, een criterium voor de graad der leverbeschadiging heeft. De bepaling van het serum-cholinesterase zou van nut kunnen zijn voor de prognose, daar een verhoging van het serum-cholinesterase een aandoening zou zijn, dat de lever zich herstelt, terwijl bij een voortdurende daling van deze esterasewaarde men de prognose zeer dubieus zou moeten stellen;
- h. dat de cholecystitis en cholelithiasis vergezeld gaan met een verhoging van het serum-cholinesterase (de verklaring hiervoor is niet duidelijk en vergt nader onderzoek);
- i. dat de remming van het serum-cholinesterase bij de hond of de cavia, die met phosphor vergiftigd is, teweeg gebracht wordt door de leverbeschadiging (Frommel, Herschberg (80) en Piquet 1943 en Beznak).

Men vindt bij verschillende intoxicaties zowel de endogene als de exogene een daling van het serum-cholinesterase, terwijl men natuurlijk ook een daling van de tributyrine-hydrolyse vindt, daar, zoals we gezien hebben, het serum-cholinesterase behalve acetylcholine ook tributyrine etc. splitst. De daling van het serum-cholinesterase is vooral duidelijk bij de uraemie (Schaller 1942 (133), Rumma en Sibul 1943, (35) wat Pauli echter ontkent; volgens hen zou namelijk het ureum activeren. Wij vonden ook bij een patiente met een uraemie (meer dan 3 gr. per liter) een zeer lage serum-cholinesterase-waarde.)

Bij alle chronische infectieziekten (tuberculose, chronische etteringsprocessen), bij toxaemiën (Dikshit en Mahal 1937) en bij vergevorderde gevallen van carcinoom (Milhorat) (130), vooral bij die gevallen, waarbij we metastasen hebben in de lever, is het serum-cholinesterase duidelijk gedaald en kunnen zelfs extreem lage waarden worden bereikt.

Bij de alcoholvergiftiging hangt de daling af van het percentage alcohol in het bloed (zie het hoofdstuk over Remming).

Bij claudicatio intermittens, waarbij H. Laborit en P. Morand (124) sterke verlaging van het serum-cholinesterase vonden, die niet reageerde op de gebruikelijke therapie (sympathectomie, acetylcholine etc.) werd een belangrijke succes geboekt met eserine. Bij de ziekte van Bürger vond Pirolli een sterke vermeerdering van het serum-cholinesterase; deze waarde steeg progressief met de verergering van de ziekte.

Bij de hypochrome anaemiën zonder beenmergbeschadiging, zijn de erythrocyten „voller” beladen met cholinesterase, bij de ziekte van Vaquez, bevatten ze minder cholinesterase, zodat we bij de anaemiën en bij de polyglobuliën uiteindelijk normale erythrocyten-cholinesterasen vinden. Bij die anaemiën met een beenmergaandoening, zoals de pernicieuze anaemie, vinden wij lage erythrocyten-cholinesterasewaarden, als de haematocriet daalt beneden de 30; de levertherapie doet deze cholinesterasen eêrder stijgen dan de reticulocyten. Bij de acute zware anaemiën daalt het serum-en erythrocyten-cholinesterase zo sterk, dat hierdoor mogelijk een eventuele shock-toestand verklaard zou kunnen worden (Verebely 1937).

Bij asthma-bronchiale zou men twee typen kunnen onderscheiden:

1. het primair allergische asthma met hoge serum-cholinesterasewaarden;
2. de secundaire asthma's (pulmon. sclerose, emphyseem, asthma cardiale), zouden daarentegen normale of iets te lage serum-cholinesterasewaarden hebben.

Dit onderscheid tussen de asthma's met een hoog en met een normaal serum-cholinesterase zou kunnen wijzen op de meer of mindere belangrijkheid van het systeem: acetylcholine-cholinesterase in de pathogenese van deze syndromen (Epstein, Herschberg en Piquet 1944). De asthma's met een verhoogd esterasegehalte zouden beter reageren op de klassieke asthma-therapie, dan die met normale esterasewaarden.

Wat de myastheniën betreft, hierover zijn de acten nog niet gesloten. Zo zag Jucker (133), dat het optimum van de therapeutische werking van prostigmine niet overeenkwam met de maximale depressie van de activiteit van het serum-cholinesterase. Na 6 min. vond hij al een sterke daling en zag hij pas na 30 min. een optimale therapeutische werking. Volgens hem zou het prostigmine sneller het bloed passeren, dan de spieren. Het zou zich daar als het ware opbouwen en zo pas iets later haar maximale werking kunnen geven, zelfs bij doseringen, die op de serum-cholinesterase nog niet inwerken. Glasson vond normale serum-cholinesterasewaarden bij de myasthenie. Bij de myasthenie ligt de oorzaak van deze ziekte vrij zeker in een gestoord zijn van het evenwicht acetylcholine—cholinesterase. Zoals we echter zagen, gaven serum-cholinesterasebepalingen geen duidelijke uitkomsten bij de myasthenie. Ook het specifieke cholinesterase was normaal. Corman deed bepalingen met mecholyl als substraat en vond bij een patiente, die dagenlang geen prostigmine-therapie gehad had en daardoor in een zeer slechte algemene toestand gekomen was, normale specifieke cholinesterasewaarden van het totale bloed. Toen hij patiente met prostigmine weer in een goede algemene toestand gebracht had, was het specifieke cholinesterasegehalte gezakt tot de helft. Men zou, zo kunnen zeggen, dat het cholinesterase te actief is. De myasthenie wordt tewegg gebracht door een insufficiëntie van het cholinergische systeem in de eindplaatjes, hierdoor hebben we een onvoldoende acetylcholine-vorming. Elk geneesmiddel, dat de concentratie van het acetylcholine bevordert, (anti-cholinesterasen, prostigmine, eserine, de vorming van vrij acetylcholine door kalium-ionen of de werking van het hormoon op de spier

-guanidine ephedrine-) herstelt dit neuromusculaire evenwicht. Al werd bij de katten, die chronisch vergiftigd waren met D.F.P. (112), een toestand als bij de myasthenie verkregen, toch bleek, dat niettegenstaande de acetylcholine-ophoping volgens de Amerikaanse onderzoekers, acetylcholine nog een normale reactie gaf. Volgens de Franse onderzoekers echter zou bij myasthenie het acetylcholine te snel gesplitst worden. Het bewijs hiervoor is nog niet geleverd; ook niet, dat D.F.P. de acetylcholinevorming in de synapsen zou tegen gaan. Wij vonden wel bij een patiente te hoge specifieke cholinesterase waarden.

Bij de ziekte van Thomson, de myotonie, vindt men vrij regelmatig te lage serum-cholinesterasewaarden, zoals reeds in het begin van het hoofdstuk vermeld werd (over de specifieke cholinesterase zijn tot nu toe nog geen bepalingen gedaan). Het acetylcholine, dat zelfs in normale hoeveelheden gevormd wordt, zou bij de myotonie onvoldoende gestrueerd worden en zo aanleiding geven tot contracturen met verlenging van de refractaire periode van de spieren. Bij deze patienten zou chinine, door remming van de pseudo-cholinesterase, een waardevol therapeuticum zijn. Zoals we nu ook kunnen begrijpen, verergert prostigmine juist de klachten doordat het cholinesterase nog meer verlaagd wordt.

Libbrecht(52) vond bij een geval van paroxysmale tachycardie hoge serum-cholinesterasewaarden. Ook bij diabetici met een zeer sterke acidose was dit het geval.

Bij hypertensie vond hij hoog normale pseudo-cholinesterasewaarden. Bij de renale vormen van hypertensie zag hij steeds normale esterasewaarden, echter bij een bijzondere vorm van hypertensie vond hij zeer hoge waarden. Deze laatste hypertensie kenmerkt zich nu door een paradoxyle reactie op adrenaline, atropine, en prostigmine. Bij normale personen geeft 1 mgr adrenaline subcutaan een bloeddrukstijging met polsversnelling; de polsdruk wordt groter en nog meer geaccentueerd, door dat de diastolische bloeddruk daalt. Atropine 1 mgr subcutaan ingespoten, geeft een lichte systolische en diastolische bloeddrukstijging. De polsdruk blijft zo $\pm$ normaal, de polsfrequentie stijgt met 30 tot 50%. Na 15 mgr prostigmine zien we een lichte daling van de maximale en minimale bloeddruk; de polsfrequentie vermindert iets. Het bloedbeeld laat na 1 mgr adrenaline, subcutaan toegediend, een leucocytose met lymphocytose en relatieve leucopenie zien. Het basaalmetabolisme stijgt met 15—50%. Het bloedsuikergehalte stijgt sterk en is na een uur nog niet tot de beginwaarde gedaald.

Bij de essentiële hypertensie vindt Libbrecht na 1 mgr atropine een sterke bloeddrukdaling van 40 tot 60 mm Hg. Vooral de maximale bloeddruk daalt sterk; de minimale minder. De pols stijgt minder dan bij normale mensen. Op $7\frac{1}{2}$ mgr prostigmine ziet men een sterke systolische en diastolische bloeddrukdaling met een evenredige polsvertraging. Hoe hoger de beginwaarde is, hoe sterker de bloeddrukdaling. Op 1 mgr adrenaline vindt hij een normale reactie bij deze categorie.

Bij de renale vormen van hypertensie ziet hij na 1 mgr atropine een geringe daling van de systolische en diastolische bloeddruk. De polsversnelling is als bij normalen. In vergevorderde gevallen vindt hij geen

reactie meer op de bloeddruk. Op prostigmine kreeg hij ook een lichte reactie; op adrenaline vond hij een zeer sterke bloeddrukstijging.

De derde categorie reageerde paradoxaal op adrenaline, d.w.z. sterke bloeddrukdaling en polsvertraging, hij zag echter ook in plaats van een leucocytose met lymphocytose, een leucopenie + lymphopenie optreden. Na atropine vond hij bij deze vorm van hypertensie geen vermindering van de maagsapsecretie, maar een duidelijke vermeerdering van de maagzuurwaarden. Gaf hij van tevoren 1 mgr atropine, dan zag hij na 1 mgr adrenaline, een volkomen normale reactie wat bloeddruk en leucocytose betrof. Na 15—20 min. werd 1 mgr adrenaline subcutaan geïnjecteerd, dan was de bloeddruk behoorlijk gedaald op de atropine. Op deze wijze viel de maximale werking der atropine samen met een intense adrenalinewerking.

Het pseudo-cholinesterase is zoals wij gezien hebben, in het algemeen verhoogd bij een overproductie van acetylcholine, het is dus juist tegenovergesteld aan wat wij zouden kunnen denken, verhoogd bij aandoeningen met een sterke vagustonus (primair asthma bronchiale, spastische constipatie, Schaller). In deze gevallen zou de enzymatische werking toch onvoldoende zijn om de sterke productie van acetylcholine te neutraliseren. Het cholinesterase (serum) kan ook verhoogd zijn bij gevallen met een verhoogde sympathicus-tonus; hier zou de enzymatische hyperactiviteit z'n doel voorbijschieten, de te snelle destructie van het acetylcholine zou een syndroom geven, waarbij de sympathicus overweegt. Het serum-cholinesterase kan ook, hoewel normaal of zelfs laag, een tekort aan acetylcholine veroorzaken. Dit vinden we vooral, als de acetylcholine-synthese onvoldoende is, zoals bij de myasthenia gravis; de verminderde cholinesterase-activiteit is nog te sterk voor de geringe acetylcholine-productie, maar als deze acetylcholine-productie normaal blijft en het cholinesterase vermindert, zouden we een vagotone toestand krijgen. Deze theorie lijkt mij echter vrij dubieus, daar zij steeds gaat over het pseudo-cholinesterase, dat, zoals wij gezien hebben in de experimenten van Mendel en Hawkins, zeker geen belangrijke rol vervult in de overdracht van de zenuwprikkels.

Tot nu toe was het niet bekend, dat het dieet en de voedingstoestand een rol speelden bij het pseudo-cholinesterase gehalte van het serum. Wel was bekend, dat de lever het maakt.

M.c. Cance, (121) Widdowson en Hutchinson bepaalden het serum-cholinesterase bij 39 gezonde Engelsen en vergeleken deze waarden met die bij Duitsers, die in een slechte conditie verkeerden. Geen Duitser bereikte de waarde van de Engelsen. Bij die Duitsers, die er het slechtst aan toe waren (hongerodeem) zagen zij de laagste pseudo-cholinesterase waarden. Werden deze mensen met een volwaardig dieet min of meer op peil gebracht, dan zagen zij een duidelijk stijgen van de pseudo-waarden. Kwamen ze weer in slechtere omstandigheden, dan daalde parallel met het gewicht ook deze waarden. Extra vet had geen invloed. Zij besluiten er uit, dat het bepalen van het pseudo-cholinesterase een waardevolle aanwijzing is voor de algemene toestand.

J. Davis (123) deed merkwaardige proeven bij honden. Hij veroorzaakte bij hen een hyperchrome anaemie door ze 2 maal daags 3 mgr. acetylcholine in te spuiten (subcutaan). Twee dieren kregen er nog 1 mm. gr. physostigmine bij. Ook werd er bij 2 honden een anaemie veroorzaakt door ze 200 mm. gr. cholinechloride 2 maal daags per os te geven.

Volgens Davis zou deze anaemie door het acetylcholine bewerkstelligd worden. Het feit, dat er 13 gamma $\%$ acetylcholine-achtige activiteit in het serum van anaemische honden aanwezig was, was 1½ uur, nadat zij de choline opgegeten hadden, versterkt dit vermoeden. Door folinezuur en leverextract verminderde deze activiteit. Acetylcholine zou een anaemie veroorzaken door de vasodilatatie, vermeerderde bloeddoorstroming en sterkere zuurstofvoorziening van het beenmerg??

Zo zou er een vermindering van de erythrocyten-genese optreden. 2 mm. gr. folinezuur i.m. veroorzaakte bij 2 anaemische honden, die steeds nog gevoed werden met choline, een reticylocytencrisis en verbetering der anaemie, ook leverextract hielp. Men zou dit kunnen verklaren door een vermeerderde cholinesterase-activiteit. Een onbehandelde anaemische hond had lage cholinesterasewaarden vergeleken met die honden, die cholinezuur kregen. Kreeg deze hond folinezuur, dan steeg zijn cholinesterase-activiteit tot het 12-voudige. Bij mensen met hyperchrome anaemie zagen ze ook met folinezuur hetzelfde resultaat.

De zelfde onderzoeker zag bij honden, die hun pseudo-cholinesterase-activiteit van hun serum haast totaal verloren hadden door D.F.P.-injecties, sneller en normaler activiteit van deze esterase na lever- en pteroylglutaminezuur inspuitingen ontstaan, dan de honden die niets kregen.

HOOFDSTUK VI

Bespreking der uitkomsten

- a. Naar de literatuur.
- b. Naar de bevindingen van Libbrecht (52).
- c. Eigen conclusies.

Voor al eer ik U over mijn resultaten kan spreken, zou ik even in het kort willen mededelen wat ik met de verschillende vormen van hypertensie en het syndroom van Page bedoel.

De essentiële hypertensie, is die vorm van verhoogde bloeddruk, waarvoor we geen nadere aanknopingspunten vinden. Fishberg (117) schrijft:

„The concept of essential hypertension includes those cases of chronic hypertension, which neither clinically nor anatomically can be demonstrated to have evolved from antecedent inflammatory disease of the kidneys or urinary obstruction.”

1. De nierfunctie moet dus intact zijn.
2. Hij moet jaren bestaan.
3. Er mag geen obstructie gevonden worden in het stroomgebied van aorta of andere arteriën, noch mogen wij een shunt vinden tussen een slagader en een ader.
4. Er mogen geen ernstige afwijkingen bestaan in de fundus oculi, als papiloedeem, enz.

De maligne hypertensie, die gewoonlijk op iets jongere leeftijd begint, kan zich vaak manifesteren bij patienten, die reeds lang een verhoogde bloeddruk hebben. De bloeddruk is meer gefixeerd dan die van de benigne vorm. De diastolische druk bedraagt gewoonlijk 130 of meer. Karakteristiek zijn de oogfundus afwijkingen, de z.g.n. retinitis albuminurica, vooral het papiloedeem. Vaak hebben ze encephalopathische aanvallen, die zich uiten in hoofdpijn, braken convulsies, tijdelijke amaurose. Vaak vinden we ook nierafwijkingen erbij, zoals een gestoorde Urea-Clearance. De urine kan eiwit bevatten en in het sediment kunnen we vaak vorm elementen vinden.

Bij de renale vorm van hypertensie staan daarentegen de nierafwijkingen op de voorgrond, zoals gestoorde nierfunctieproeven en urine-afwijkingen. Meestal kunnen wij in de anamnese een acuut moment vinden (keelpijn, wondjes, oorontsteking enz.). In de fundus oculi vinden we op de duur dezelfde verschijnselen als bij de maligne vorm, zodat de differentiaal-diagnose tussen beide vormen soms zeer moeilijk kan zijn.

In 1935 beschreef Page een „hypertensief diencephaal syndroom” (118, 119, 120) dat hij aldus noemde wegens de overeenkomst met de verschijnselen, die ontstaan door prikkeling van de diencephale centra. Als kenmerkende symptomen gaf hij aan:

1. „A flushing skin”, een eigenaardig blozen, dat niet egaal is, maar vleksgewijze optreedt beginnend in het gelaat en zich verder versprei-

dend over hals en borst, soms tot op de buik. Vaak was opvallend, dat dit symptoom eerder en in sterkere mate optrad wanneer wij een patiënte met enkele co-assistenten bekeken.

2. Af en toe een spontane vloed van tranen.
3. Sterk zweten, een snelle pols en hartkloppingen.
4. Daarentegen koude handen en voeten. Het geheel staat, zoals we reeds opmerkten, sterk onder de invloed van emoties.
5. Ze zijn vaak sterk vasolabiel, de bloeddruk wisselt sterk.
6. De basale stofwisseling, die vaak verhoogt is, reageert totaal niet op thiouracil, doch uitstekend op prominal (van Buchem) (120). Tevens vond van Buchem dat het cholesterinegehalte van het bloed normaal of verhoogd is en dat de operatieve therapie, een subtotale thyreoïdectomie, faalde. Het hele ziektebeeld zou dus zijn oorsprong vinden in een stoornis van de diencephale centra, onafhankelijk van de functie van de schildklier (van Buchem).

Bij het asthma bronchiale hebben we een sterke invloed van de vagus, zodat het ons zeer interesseerde, hoe hier de beide cholinesterasen en vooral het specifieke zich zou gedragen.

Daar de hele theorie over de werking van prostigmine bij myasthenie nog niet geheel verklaard was, hebben wij de gelukkige gelegenheid gehad om ook een patiënte met een myasthenie te onderzoeken op haar pseudo-specifieke cholinesterase gehalte van haar bloed.

Bij een patient met een isthmus-stenose deden wij ook deze bepalingen. Voor de pseudo-cholinesterase bepaling gebruikten wij dezelfde acetylcholine-concentratie als Libbrecht.

In de literatuur konden wij niet veel over het specifieke cholinesterase gehalte bij verschillende ziekten vinden.

Bij de myotoniën vindt men vrij regelmatig te lage serum-cholinesterase-waarden. Bij de ziekte van Parkinson werden zeer wisselende uitkomsten van de pseudo-waarden verkregen. Bij de myasthenia gravis werden steeds normale pseudo-cholinesterase-waarden beschreven. Corman vond bij een patiënte met myasthenie, vóór de behandeling met prostigmine normale specifieke cholinesterasewaarden. Patiënte, verkeerde toen echter in een zeer slechte algemene toestand. Nadat patiënte met prostigmine weer hersteld was, vond hij, dat het specifieke cholinesterase tot de helft gedaald was. Bepalingen van het pseudo-cholinesterase heeft hij niet gedaan. Hij gebruikte evenals wij mecholyl en bepaalde het specifieke cholinesterase ook in totaal bloed.

Bij chronische infectie ziekten, toxaemiën en bij uitgebreid carcinoom, vooral bij levermetastasen werden lage pseudowaarden gevonden. Daar het pseudo-cholinesterase in de lever gevormd wordt, was het te verwachten, dat deze bij sterke leverparenchymstoornissen gedaald was. Dit wordt ook algemeen in de literatuur beschreven. Men zou het zelfs als een differentiaal diagnosticum voor mechanische- en parenchym icterus kunnen gebruiken.

Bij een geval van paroxysmale tachycardie vond Libbrecht verhoogde pseudo-waarden.

Bij de essentiële hypertensie zag hij hoog normale waarden, terwijl bij die hypertensies, die paradoxaal op physostigmine, adrenaline enz. reageerden, steeds hoge waarden gevonden werden.

Hij zag na prostigmine (3 d.d. 7,5 mgr.) de bloeddruk en de verhoogde pseudo-cholinesterasewaarden zakken.

Bij het asthma bronchiale maakt men onderscheid tussen het primair allergische asthma met hoge pseudo-waarden en het secundaire asthma (emphyseem, pulmonaalsclerose) met normale of iets te lage waarden.

Wanneer wij bij onze 29 patienten met een essentiële hypertensie de cijfers van het specifieke en het pseudo-cholinesterase nader bestuderen, zien wij, dat tien een duidelijk verhoogd pseudo-cholinesterase gehalte van hun serum hadden. 5 hadden een iets verhoogd pseudo-cholinesterase gehalte.

8 hadden een normaal pseudo-cholinesterase gehalte en 6 hadden een iets te laag pseudo-cholinesterase gehalte.

Bij Mej. B., die ook een essentiële hypertensie had, vonden wij een tumor in de lever. De leverfunctie proef was ook sterk gestoord (galactose uitscheiding in 24 uur meer dan 5 gram).

Deze verlaagde pseudo-cholinesterase waarde mogen wij dus op de rekening van haar leverlijden schuiven. De 6 andere patienten, die ook verlaagde pseudo-waarden hadden, hadden geen leverfunctiestoornis.

Samenvattend kunnen we dus zeggen, dat van de 29 patienten:

10 of 35% een duidelijk verhoogd pseudo-cholinesterase hadden.

5 of 17,1% een iets verhoogd pseudo-cholinesterase hadden.

8 of 27,4% een normaal pseudo-cholinesterase hadden.

6 of 20,5% een iets te laag pseudo-cholinesterase hadden.

Wij kunnen dus zeggen 52,1% had een te hoog pseudo-cholinesterase gehalte, 44,4% had normale waarden, terwijl één patiente of 3,5% duidelijk te lage uitkomsten gaf.

Dit klopt dus wel wat met de waarden van Libbrecht bij de essentiële hypertentie. Hij vond steeds hoog normale uitkomsten. Wij vonden echter bij 5 patienten tuidelijk veel te hoge waarden (274, 268,8, 296, 280 en 265 mm³ CO₂).

Aan een patiente, Mej. J., die een te hoog pseudo-cholinesterase gehalte had, hebben wij in navolging van Libbrecht gedurende 14 dagen 3 maal daags 7,5 mgr. prostigmine gegeven. Na 2 weken vonden wij dezelfde hoge bloeddruk, terwijl het pseudo-cholinesterase gehalte duidelijk gezakt was van 235 tot 165 mm³ CO₂.

Dit is dus wel in overeenstemming met de bevindingen van Libbrecht wat het dalen betreft van de pseudo-waarden. We zagen echter niet de minste invloed op de bloeddruk. Wij hebben al eerder aangetoond, dat het pseudo-cholinesterase zeker niet belangrijk is voor de prikkel-overdracht. Deze bevinding verwonderde ons dus eigenlijk niet.

Wat het specifieke cholinesterase betreft, het volgende:

Van deze zelfde 29 patienten met essentiële hypertensie hadden er 2 één duidelijk verhoogd specifiek cholinesterasegehalte van het bloed of ± 700 (436,8 en 448 mm³ CO₂). Bij 93% vonden wij dus normale waarden. Bij dezelfde patiente Mej. J., die ook een te hoog pseudo-cholinesterasegehalte had, zagen wij na 2 weken prostigmine (3 maal daags 7,5 mgr.) toediening ook een sterk zakken van het specifieke cholinesterase waarde, deze werd n.l. 260 mm³ CO₂.

De andere patiente, Mej. B., had na 10 weken een normaal specifiek cholinesterase, terwijl het pseudo gelijk gebleven was.

Hieruit blijkt dus, dat het specifieke cholinesterase bij de essentiële hypertensie niet verhoogd is, wat ook wel te verwachten was uit het onderzoek van Grob, Lilienthal en Jones.

Zij remden de specifieke cholinesterasen met een der sterkste anti-cholinesterasen, het D.F.P., en zagen nooit een daling van de bloeddruk optreden.

Bij 4 patienten met een maligne hypertensie werd ook het specifieke- en pseudo-cholinesterase gehalte van het bloed, respectievelijk van het serum bepaald. Hierbij bleek, dat één patiente, Mej. R. v. N., steeds hoge specifieke cholinesterasewaarden had. Twee daarentegen hadden normale specifieke cholinesterasewaarden. De pseudo-cholinesterasen daarentegen, waren duidelijk te laag.

Bij twee patienten vonden wij 152 mm³ CO₂ en 158 mm³ CO₂. Mej. R. v. N., had vlak voor haar dood extreemlage pseudowaarden. Dit laatste werd door Libbrecht en anderen vaak gezien. Bij een patient met een isthmus-stenose werden normale, zowel specifieke- als pseudo-cholinesterasewaarden gevonden. In de literatuur is hier niets over bekend.

Vervolgens werden 7 patienten met het syndroom van Page onderzocht. Deze hadden allen een niet verhoogd specifiek cholinesterasegehalte. Het pseudo-cholinesterase was in één geval licht verhoogd (235 mm³ CO₂). Mej. H. had echter de extreem hoge waarde 297 mm³ CO₂.

In navolging van Libbrecht probeerden wij of er bij Mej. H. op adrenaline een paradoxale reactie ontstond op haar reeds sterk verhoogde bloeddruk. Na een halve mgr. adrenaline, subcutaan toegediend, liep haar pols op van 92 tot 120 per minuut. Haar bloeddruk steeg van 165/90 tot 205/85, reeds een kwartier na de injectie. Deze verhoogde bloeddruk daalde weer na één uur tot de oorspronkelijke waarde.

Wij waren ook zeer benieuwd, of zij een leucopenie met lymphopenie zou krijgen. Volgens Libbrecht zouden deze patienten met hypertensie en extreem hoge pseudowaarden na adrenaline inplaats van een leucocytose met lymphocytose, een leucopenie met lymphopenie krijgen.

Reeds na 20 min. zagen we een sterke leucocytose met lymphocytose optreden.

Libbrecht verklaarde met zijn theorie:

1. Het fraaie reageren van de bloeddruk bij patienten met hypertensie met verhoogde pseudo-cholinesterase waarden op prostigmine.

2. De paradoxale reactie van bloedbeeld en bloeddruk op adrenaline.

Als volgt:

Bij deze mensen bestaat een lage parasympathicus-tonus. Er wordt weinig acetylcholine gevormd in het parasympathische zenuwstelsel, en er wordt dus weinig beroep gedaan op het cholinesterase, het gehalte hiervan in het serum is dus hoog. Elke factor, die het cholinesterase remt, zou kleine hoeveelheden acetylcholine een kans geven om zijn werking te ontplooiën. Voor prostigmine is dit duidelijk; ook atropine remt het serum-cholinesterase en ook adrenaline geeft een remmende werking en verhoogt zo de lage parasympathicus-tonus. Hoe hoog was echter het specifieke cholinesterase? Het is best mogelijk, dat het specifieke cholinesterase in deze gevallen met paradoxale reactie wat verhoogd was; het serum-cholinesterase echter heeft zeker geen invloed op de bloeddruk. Zoals Mendel, Gunter en anderen aantoonde, is het serum-cholinesterase niet belangrijk. Als zij het pseudo-cholinesterase totaal remden, zagen zij nog niets optreden. Dit was pas het geval, als ook het specifieke cholinesterase tot 70—80% geremd was. In dit licht bezien, mogen wij deze paradoxale reactie van atropine en adrenaline zeker niet verklaren door een remming van het te hoge serum-cholinesterase. Heymans zag bij zijn honden met D.F.P. ook geen daling van de bloeddruk, evenals Mendel en medewerkers. De reeds genoemde Amerikaanse onderzoekers Harvey, Grob en anderen zagen met D.F.P. bij mensen ook geen bloeddrukdaling optreden, terwijl het specifieke cholinesterase toch zeer sterk geremd was. Zoals reeds gezegd, vonden wij over het algemeen bij patienten met hypertensie normale specifieke cholinesterase waarden. Het serum-cholinesterase bleek bij ons ook vaak verhoogd. Ik geloof toch echter dat zoals wij gezien hebben, er veel factoren zijn, die het pseudo-cholinesterase kunnen remmen of activeren, dat we uit een lichte verhoging van dit onspecifieke serum-cholinesterase niet al te veel mogen besluiten.

Bij een patiente met acute nephritis was het specifieke cholinesterase gehalte, toen het ureumgehalte in haar bloed 2 gr. per liter bedroeg, normaal en bleef dit toen het ureumgehalte zakte tot 1,7 gr. per liter. Het pseudo-cholinesterase echter was bij 2 gr. ureum, duidelijk verhoogd ($256 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$). Toen het ureumgehalte daalde tot 1,7 gr. per liter, daalde ook het pseudo-cholinesterase gehalte tot hoog normale waarde ($224 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2$).

Mogelijk heeft hier het ureum van 2 gr. activerend gewerkt op het pseudo-cholinesterase, al zagen wij bij een patient, Hr. S., met een maligne hypertensie en een ureumgehalte van 4,1 gr. per liter totaal geen activering van het pseudo-cholinesterase, wat ook het geval was, bij Mej. R. v. N.

Bij 6 patienten met asthma-bronchiale werd vervolgens hetzelfde onderzoek verricht. Hierbij bleek, dat het pseudo-cholinesterase slechts in 1 geval duidelijk verhoogd was.

Het specifieke cholinesterase was slechts bij 2 asthma-patienten verhoogd, n.l. bij patient M. en patient B.

Patient M. verkeerde toen in een status asthmaticus. Enige weken daarna zag ik hem terug. Hij voelde zich toen uitstekend en was totaal

niet meer benauwd geweest. Het specifieke cholinesterase gehalte bleek toen normaal geworden te zijn.

De verklaring lijkt mij nogal moeilijk. Bij een hoog specifiek cholinesterase gehalte krijgen we een sterke acetylcholine hydrolyse, dus een geringe vagus werking, waardoor dus min of meer een overwicht van de sympathicus.

Patient B. en M., hadden nu geen gewoon asthma bronchiale zonder meer. De eerste had een thoracoplastiek ondergaan vanwege een tuberculeus longproces, de tweede had een zeer sterk emphysema pulmonum. Ze hadden dus zo'n sterke anatomische afwijkingen, dat niettegenstaande het hoge specifieke cholinesterase gehalte en dus de sterke sympathicus-tonus, zij toch asthmatisch bleven. Men zou dit als een natuurlijke hyperreactie van het lichaam kunnen zien, die bij deze asthma's met zo'n uitgebreide longafwijkingen, toch niet effectief kan zijn. M.i. moest na de remming van de cholinesterasen door prostigmine, weer een asthma-aanval optreden, waarna we, als de aanval lang duurt, toch weer hoge specifieke cholinesterase waarden moeten vinden. Het verschil in de pseudowaarden bij een primair allergisch en bij een secundaire asthma konden wij niet bevestigen. Wij vonden, zoals reeds gezegd, normale pseudo-cholinesterase waarden. Wij zagen juist bij 2 secundaire asthma's verhoogde pseudo-cholinesterase waarden. Dus juist tegenovergesteld met wat wij in de literatuur er over vinden.

Een myasthenie patiente werd zonder therapie gelaten enige dagen, zolang, totdat er duidelijke verschijnselen optraden. Het toen bepaalde specifieke cholinesterase was aan de hoge kant, terwijl het pseudo-cholinesterase normaal was. Dit laatste stemt zeer goed overeen met de bevindingen in de literatuur. Tot dusver heeft men geen aannemelijke verklaring kunnen vinden voor de werking van de prostigmine therapie bij de myasthenia gravis.

Na enige dagen toediening van prostigmine verbeterde de algemene toestand van patiente zeer en daalde de verhoogde specifieke cholinesterase waarde aanzienlijk, terwijl het pseudo-cholinesterase hetzelfde bleef. Dit stemt niet geheel overeen met de bevindingen van C o r m a n, die normale specifieke waarden vond zonder therapie. Na de prostigmine werd ook bij hem de algemene toestand van de patiente beter en daalde het specifieke cholinesterase tot de helft (persoonlijke mededeling).

Samenvattend kan ik dus mededelen, dat het specifieke cholinesterase gehalte practisch altijd constant is. Wij vonden het alleen verhoogd bij twee patienten met een essentiële hypertensie, waarvan de één spontaan en de andere na prostigmine normale waarden kreeg zonder dat de bloeddruk hierdoor beïnvloed werd. Verder was deze verhoogd bij een onbehandelde myasthenica en bij 2 secundaire asthma's en één maligne hypertensie.

De pseudowaarden is inderdaad vaak verhoogd bij essentiële hypertensie. Bij die vormen van hypertensie met zeer hoge pseudo-cholinesterase waarden zagen wij geen paradoxale reactie van adrenaline op bloedbeeld en bloeddruk. Wij zagen ook niet, dat de bloeddruk bij deze patienten met hoge pseudo-cholinesterase waarden daalde op prostigmine toediening.

De theorie van Libbrecht kunnen wij dus niet bevestigen. Wij vonden zelfs in tegenstelling met Libbrecht vaak te lage pseudo-cholinesterase waarden, vooral bij de maligne hypertensie.

Over de nephritis kregen wij geen duidelijke indruk, daar we maar één geval onderzochten.

SAMENVATTING

De monographie van Libbrecht „De arteriële hypertoniën” was voor ons de aanleiding om een onderzoek te doen over het specifieke en pseudo-cholinesterase bij verschillende vormen van hypertensie, myasthenie en asthma bronchiale.

Na een korte inleiding worden in hoofdstuk I de nieuwere inzichten in het systeem acetylcholine, cholinesterase en choline-acetylase behandeld. Tevens wordt aangetoond, dat de proeven van Heymans met het D.F.P. deze inzichten niet doen verwerpen.

In hoofdstuk II volgt dan een bespreking over de pharmacologie van het acetylcholine (muscarine-nicotine effect), waarin ook de voornaamste remmers van het cholinesterase, met name de oorlogsgassen, D.F.P., Tepe, H.T.E.P., en eserine en prostigmine uitvoeriger besproken worden. De andere remmers en activatoren van de cholinesterasen werden in een tabel opgegeven.

In hoofdstuk III wordt aangetoond, dat er een specifiek en een pseudo-cholinesterase bestaat. De invloed van substraatconcentratie en zouten op beide esterasen wordt aangetoond. Tevens worden de verschillende werkwijzen om dit ferment te bepalen, opgenoemd en de eigen techniek uitvoerig behandeld. Om het specifieke respectievelijk het pseudo-cholinesterase te bepalen moet men van een specifiek substraat gebruik maken. (methylol voor het specifieke cholinesterase en benzoyl choline voor het pseudo-cholinesterase).

In hoofdstuk IV worden de uitkomsten van de onderzoeken over het specifieke- en pseudo-cholinesterase gehalte achtereenvolgens bij de benigne, maligne hypertensie, het syndroom van Page, myasthenie en asthma bronchiale met de ziekte geschiedenissen opgegeven en in tabellen overzichtelijk vastgelegd.

Hoofdstuk V geeft een overzicht van wat er in de literatuur bekend is over de waarden van het specifieke en pseudo-cholinesterase bij de verschillende ziekten.

In hoofdstuk VI werden onze uitkomsten met de literatuur en de opgaven van Libbrecht vergeleken. Hierbij bleek dat:

Het specifieke cholinesterase vrij constant is, slechts bij 2 patienten van de 29 met een essentiële hypertensie werden verhoogde waarden gevonden. Bij 1 van de 2 werd met prostigmine een belangrijke daling van deze esterase waarden gevonden, terwijl de bloeddruk en het pseudo-cholinesterase gehalte normaal bleven. De pseudo-cholinesterasen werden in 52,1% verhoogd gevonden, wat dus wel overeenstemt met de bevindingen van Libbrecht. Bij de maligne hypertensie waren zij te laag.

Bij het syndroom van Page werd bij 1 patiente een zeer hoge pseudo-cholinesterase waarde gevonden, een paradoxale reactie op adrenaline wat bloeddruk en bloedbeeld betreft volgens Libbrecht konden wij niet bevestigen.

Ook zagen wij geen invloed van prostigmine op de bloeddruk, bij patienten, die verhoogde pseudo-waarden hadden, terwijl dit pseudo-cholinesterase gehalte toch duidelijk daalde. De specifieke cholinesterasen waren bij dit syndroom normaal.

De theorie van Libbrecht, dat het pseudo-cholinesterase iets met de bloeddruk te maken heeft, is niet juist.

Eén myasthenie patiente had zonder prostigmine een verhoogd specifieke cholinesterase, dat normaal werd na de therapie waarop ook de algemene toestand snel verbeterde.

Bij asthma bronchiale werden normale waarden gevonden, behalve bij 2 patienten met een secundair asthma (sterke longafwijkingen). Zij beiden hadden een verhoogd pseudo- en specifiek cholinesterase gehalte.

RÉSUMÉ

La monographie de Libbrecht „de arteriele hypertonien” était la cause motrice de nos recherches sur la cholinestérase, pseudo et spécifique. Dans les différents formes d'hypertension, dans la myasthénie et l'asthme bronchial.

Après une courte introduction suivent dans le premier chapitre les nouveaux points-de-vue dans le système acetylcholine, cholinestérase et choline-acétylase. Nous avons démontré, que les essais de Heymans, avec le D.F.P. ne sont pas en contradictions avec ces points-de-vue.

Dans le deuxième chapitre il est parlé de la pharmacologie de l'acetylcholine (résultat de muscarine et nicotine), et des substances étouffantes principales de la cholinestérase, notamment les gaz de guerre D.F.P., Tepe, H.T.E.P. et eserine et prostigmine. Les autres étouffantes et activants peuvent être trouvés dans un tableau ad joint.

Dans le troisième chapitre est démontré l'existence d'une spécifique et pseudo cholinestérase. L'influence de la concentration du substrat et des sels sur les deux estérases est mise en évidence. Aussi sont nommées les différentes méthodes pour mesurer l'action du ferment et notre technique est exposée amplement. Il faut faire usage d'un substrat spécifique pour déterminer l'action de la pseudo- et de la spécifique cholinestérase. (Le mécholyl pour la cholinestérase spécifique et la benzoyl-choline pour la pseudo-cholinestérase).

Dans le quatrième chapitre sont nommés les résultats des épreuves de l'action de la cholinestérase pseudo et spécifique dans l'hypertension bénigne et maligne, le syndrome de Page, la myasthénie et l'asthme bronchial avec les histoires de la maladie les quelles sont définis en résumé dans des tableaux adjoints.

Le cinquième chapitre donne une vue générale des écrits sur les valeurs de la spécifique et pseudo cholinestérase dans les différentes maladies.

Dans le sixième chapitre suit une comparaison de nos résultats avec les écrits et les données de Libbrecht. Il en résulte:

La cholinestérase spécifique est assez constante seulement deux patients sur vingt-neuf avec une hypertension essentielle montraient des valeurs élevés. On trouvait chez un des deux un abaissement important de cette estérase après un traitement avec prostigmine, tandis que la tension et la pseudo-cholinestérase restaient normal. Les pseudo-cholinestérases furent élevées dans 52%, ce qui est bien en comparaison avec les résultats de Libbrecht, dans l'hypertension maligne elles étaient trop basses.

Dans le syndrome de Page on trouva chez une malade une très haute valeur de la pseudo-cholinestérase. La réaction paradoxale sur l'adrénaline ce qui concerne la tension et le sang selon Libbrecht n'a pas été confirmée par nous.

Aussi nous n'avons pas remarqué l'influence de la prostigmine sur la tension, chez les malades qui avaient une haute valeur de la pseudo-cholinesterase, tandis que cette pseudo-cholinesterase baissa remarquablement. Les cholinesterases spécifiques étaient normales dans ce syndrome.

La théorie de Libbrecht qu'il y a une certaine relation entre la pseudo-cholinesterase et la tension n'est pas vraie.

Une malade atteinte de myasthénie avait des hautes valeurs de la cholinesterase spécifique sans la prostigmine. Après le traitement on trouvait des valeurs normales, tandis que la condition générale s'améliora rapidement.

Dans l'asthme bronchial ces valeurs étaient normales, sauf chez deux malades avec de l'asthme secondaire.

Tous deux avaient des hautes valeurs de la spécifique et la pseudo-cholinesterase.

SUMMARY

The monography by Libbrecht „De arteriele hypertoniën” was for us the instigation for a research of the specific and pseudo cholinesterase by different forms of hypertension; myasthenia and bronchial asthma.

After a short introduction were discussed in chapter I the new views of the system acetylcholine, cholinesterase and choline-acetylase. Besides is demonstrated that the experiments by Heymans with D.F.P. don't reject these views. In the second chapter follows a discussion about the pharmacology of the acetylcholine (muscarine-nicotine effect), in which also the most principal inhibitors of the cholinesterase, namely the war-gasses, D.F.P., Tepe, H.T.E.P. and eserine and prostigmine are discussed in a broader way. The other inhibitors and activators of the cholinesterase are mentioned in an index.

In the third chapter is demonstrated that there is a specific and a pseudo-cholinesterase. The influence of substrate concentration and salts on both esterases is shown.

Also are the different methods mentioned to measure this enzym and the own technic is there extensively exposed.

To determine the specific and the pseudo-cholinesterase there is to by used a specific substrate- (meholyl for the specific cholinesterase and benzoyl choline for the pseudo-cholinesterase).

In the fourth chapter the results of the experiments of the specific and the pseudo-cholinesterase in the benigne and maligne hypertension, the syndrome of Page, myasthenia and bronchial asthma with the histories of the diseases are given and fixed in indexes.

In the fifth chapter, follows a view of the literature of the specific and the pseudo-cholinesterase in the different diseases.

In the sixth chapter our results are compared with the literature and the values of Libbrecht. It is shown that the specific cholinesterase is rather constant, only two patients of 29 with an essential hypertension were elevated. One of this two had after a treatment with prostigmine an important fall of this value, while the blood ressure and the pseudo-cholinesterase content remained normal.

The pseudo-cholinesterase were found to have raisen, which is in harmony with the results of Libbrecht.

In the maligne hypertension they were to low. In the syndrome of Page was found one patient with a very high pseudo-cholinesterase. We could not confirm a paradoxal reaction on adrenaline of bloodpressure and blood according to Libbrecht.

We did not find any influence of prostigmine on the bloodpressure in patients with high pseudo-values, while this pseudo-cholinesterase however sunk clearly. The specific cholinesterases were normal in this syndrome.

The theory of Libbrecht that the pseudo-cholinesterase has something to do with the bloodpressure is not true.

A patient with myasthenia had without prostigmine an increased specific cholinesterase, who turned normal after the treatment, after which the general condition improved greatly.

In bronchial asthma were normal values found, except with two patients with asthma, who had a disease of the lungs. Both had a high pseudo- and specific cholinesterase content.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Monographie von Libbrecht „Die arterielle Hypertoniën“ war für uns die Veranlassung eine Untersuchung zu machen über das spezifische und Pseudo-cholinesterase bei den verschiedenen Formen von Hypertension, Myasthenie und bronchial Asthma. Nach einer kurzen Einleitung werden im ersten Kapittel die neuere Ansichten im system Acetylcholine, Cholinesterase und Choline-acetylase behandelt. Zugleich wird angezeigt das die Proben von Heymans mit dem D.F.P. diese Ansichten nicht ablehnen. In zweiten Kapittel folgt eine Besprechung über die pharmacologie der Acetylcholine (Muscarine-Nicotine wirkung) wohin auch die wichtigste Gegenkräfte der Cholinesterase, namentlich die Kriegsgase D.F.P., Tepe, H.T.E.P. und das eserine und das Prostigmine weitläufig besprochen werden. Die andere unterdrucker und activatoren der Cholinesterasen werden in einer Tabelle aufgenommen.

Im dritten Kapittel wird angezeigt das ein spezifisches und ein Pseudo-cholinesterase besteht. Der Einfluss vom Substratconcentration und von Salzen auf beiden Esterasen wird angezeigt. Zudem werden die verschiedene Arbeitsmethoden zur Bestimmung fermentes genannt und die eigene Technik umständlich behandelt. Zur Bestimmung des spezifischen respectieue des Pseudo-cholinesterases musz man ein spezifisches Substrat benutzen (Mecholyl für das spezifische Cholinesterase und benzoyl-Choline für das Pseudo-Cholinesterase). Im vierten Kapittel werden die Resultaten der Untersuchungen über den Gehalt an spezifischen und Pseudo-cholinesterase hintereinander beim rothen und blaszen Hochdruck, dem Syndrom von Page, der Myasthenie and dem Bronchial Asthma mit den Krankengeschichten erwähnt und in Tabellen übersichtlich dargestellt.

Das fünfte Kapittel gibt ein überblick von der Weltliteratur über den Werten von spezifischen und Pseudo-cholinesterasen in den verschiedenen Krankheiten.

In Kapittel VI werden unsere Resultaten mit der Literatur und den Angaben von Libbrecht verglichen.

Die untersuchung ergab dasz das spezifische Cholinesterase ziemlich constant ist, nur bei 2 patienten von 29 mit einer essentiellen Hypertension wurden erhöhte werten gefunden. Bei einem von den zweien wurde mit Prostigmine eine erhebliche Senkung von diesen Esterasewerten gefunden, indem der Blutdruck und der Gehalt an Pseudo-cholinesterase normal blieben. Die Pseudo-cholinesterase wurden in 52,1% erhöht gefunden, was deshalb wohl überein stimmt mit den Befund von Libbrecht. Bei der blaszen Hypertension waren sie zu niedrig.

Bei dem Syndrom von Page wurde bei einer Patientin ein sehr hohe Pseudo-cholinesterasewert gefunden, eine paradoxe Reaction auf Adrenaline was dem Blutdruck und dem Blutbilde angeht nach Libbrecht konnten wir nich bestätigen.

Auch sahen wir keinen Einfluss von Prostigmine auf dem Blutdruck, bei Kranken, die erhöhte Pseudo-werten hatten, indem dieser Pseudo-cholinesterase gehalt doch deutlich senkten. Die spezifische Cholinesterase waren bei diesen Syndrom normal. Die Theorie von Libbrecht dasz das Pseudo-cholinesterase etwas zu schaffen hat mit dem Blutdruck, ist nicht richtig. Eine Myasthenie-Patiente hatte ohne Prostigmine eine erhöhtes spezifisches Cholinesterase welches nach der Therapie normal wurde, wonach auch der algemeine Zustand schnell verbesserte.

Bei Bronchial-Asthma wurden normale Werten gefunden mit Ausnahme von zwei Patienten mit einem secundairen Asthma. Beide hatte einen erhöhten Gehalt ein Pseudo- und Spezifischen Cholinesterase.

LITERATUURLIJST

1. O. Loewi, E. Navratil, Pflügers Archiv. 214, 678^e, 1926.
- 1a. O. Loewi, Pflügers Archiv. 189, 239 (1921); 203, 408 (1924); 204, 416 (1924); 204, 629 (1924).
2. R. Ammon, Die cholinesterase. Ergebnisse der Enzym forschung IVE band, blz. 102.
3. H. Dale, J. Pharm. exp. Therap. 6 (1914) 147.
4. E. Easson en Ed. Easson, The cholinesterase. Biochem. J. 26, 1932, 2056, 31, 1723—1729.
5. J. M. Gunter and B. Mendel, selective inhibition of pseudo-cholinesterase by D.F.P. Canadian chemistry and Process. industries volume 29, No. 2, Page 136, Febr. 1945.
6. J. F. Fulton and D. Nachmansohn, Acetylcholine and the physiolog. of the nervous system. Science 97, 1943, 569.
7. Feldberg, Review of phys. 1946.
8. J. Feltman & E. Gellhorn, Am. J. of physiol. 232—588—593 April '41.
9. A. v. Muralt. Vagus stoffe. Experientia, vol I, No. 5, 1945, 15 Aug.
10. D. Nachmansohn and A. Mortimer. Journal of Biochem. 158, 1945, 653.
11. B. Mendel, D. B. Mundell, H. Rudney. Studies on cholinesterase. The Biochemical Journal. Vol. 37, No. 4, p. 473—476 (1943).
12. B. Mendel, H. Rudney, D. B. Mundell. The Biochem. J. 37. No. 4, p. 59, 1943.
13. Ed. & E. Stedman. The relative cholin-esterase activity of serum and corpuscles from the blood of certain species. Bioch. J. 1935, 29, 2107.
14. D. Glick. Properties of cholinesterase in human serum Biochem. J. 31, 521—525 April '37.
15. G. Alles and R. Hawes. Cholinesterase in the blood of man. J. biol. chem. 133, 375, 1940.
16. B. Mendel and H. Rudney. Cholinesterase and electrolytes. Science 102, 1945, 616.
17. B. Mendel and H. Rudney. The cholinesterase in the light of recent findings. Science 1 Dec. 1944, vol. 100 No. 2605, p. 499—500.
18. H. Casier et A. Delaunois. Recherches sur la pseudo-cholinesterase du serum et la cholinesterase vraie des globules rouges. Experientia vol. II, Fasc. 5 15, V 1946, blz. 180.
19. R. Ammon. Die Hemmungskörper der cholinesterasen. Ergebnisse der Enzymforschung 9e band blz. 33—70.
20. A. Delaunois et H. Casier. Micro-methode potentio métrique pour la détermination de la cholinesterase. Experientia vol. 11/2 1946.

21. W. B. Cannon und J. Uridil. *Am. J. Phys.* 58, 353, 1921.
22. W. H. Hollinshead & C. H. Sawyer. The cholinesterase content in relation to reflexes. *Am. J. Physiol.* 144, 79—86. June '45.
23. R. Hawkins and J. M. Gunter. Studies on cholinesterase. The selective inhibition of pseudo-cholinesterase in vivo. *The Biochemic. Journal* vol. 40 No. 2 pages 122—197, 1946.
24. J. Captain Sabine. *Journal of clinic. investigations* volume 19, 1940, blz. 833 cholinesterase of bloodcells and plasma in blood dyscrasias with special reference to Pern. Anaemie.
25. Galehr en Plattner. Ueber das Schicksal des acetylcholine im Blute. *Arch. f.d. ges. physiol.* 1928, 218, 488.
26. K. Matthes. The action of blood on acetylcholine. *J. Physiol.* 1930, 70, 338.
27. R. Ammon en Voss. Die acetylcholine zerstörende wirkung des Blutes. *Arch. f.d. ges. Physiol.* 1935, 253, 393.
28. G. Alles & R. C. Hawes. Comment on Mendel and Rudney's article; reply on Mendel and Rudney. *Science* 100: 499—500 Dec. '44. *Science* 100, 75 July 28 '44.
29. Annual. Review of Biochemistry 1946. The cholinesterasen.
30. Richter and Croft. *Biochem. J.* 36, 746—757, Dec. '42.
31. D. Glick. Properties of cholinesterase in human serum. *Biochem. J.* 521—525 No. 32.
32. D. Glick. *Biol. chem.* 125, 729, 1938; 130, 527, 1939; 137, 357, 1941.
33. E. J. Boell and D. Nachmansohn. The peripheral. nerves. *Science* 1940, 92, 513.
34. E. Martini & C. Torda. Cholinesterase activity of muscles following section of spinal cord and following denervation. *Kl. w.sch.* 17 : 97—98. Jan. 15 1938.
35. K. Rumma en I. Sibul. Zur frage des cholinesterase des menschlichen Blutes. *Zeitschrift f.d.g. experim. Med.* 112, 686 (1943).
36. B. Mendel, H. Rudney. Type of cholinesterasen in brain tissue. *Science* 98, blz. 201, 1943.
37. Nachmansohn & M. A. Rothenberg. Specificity of cholinesterases in nervous Tissue. *Science* 100, 454—455 Nov. 17 '44.
38. H. Hellauer & K. Unrath. Acetylcholine and cholinesterase in degenerating nerves. *Zeitschrift f. biol.* 39, 624—632, '39.
39. D. Nachmansohn. The cholinesterase in central nervous system. *Bull. soc. chim. biol.* 21: 761—796, June '39.
40. H. Hellauer. The cholinesterase content of nervous Tissue. *Arch. f.d.ges. physiol.* 242: 382—388 '39.
41. D. Glick. Specificity of the cholinesterases, further Studies. *J. Biol. chem.* 130: 527—534, Oct. '39.
42. D. Nachmansohn. The cholinesterase in Superior cervical sympathetic ganglion of cat. *C. R. soc. de biol.* 129; 830—833, '38.

43. D. Mundell & F. Strelitz. *Nature London* 144: 479—480 Sept. 9, '39.
44. D. Nachmansohn. The cholinesterase in voluntary muscle. *J. Physiol.* 95: 29—35 Febr. 14, '39.
45. D. Nachmansohn. The changes of cholinesterase in striated muscles during embryologic. period and during later development. *C.R. Soc. de biol.* 128, 599—603, '38.
46. D. Nachmansohn. Distribution in human brain. *C.R. Soc. de biol.* 128: 24—26, '38.
47. E. J. Boell. *J. cellular comp. physiol.* 25, 75—84 (1945) (niet gelezen).
48. Bodansky. *Science* 102, 517 (1945).
49. A. Schweitzer, E. Stedman, S. Wright. The central action of anti-cholinesterasen. *J. of physiol.* (1939) 96, 302—336.
- 49a. R. Corbell, J. Feldman & E. Gellhorn. Cholinesterase activity and acetylcholine content of. centr. nervous system. *Am. J. of physiolog* 132: 588—593, April '41.
50. Hoffman—La Roche. Die Pharmaco-therap. wirkungen von acetylcholine und Prostigmine. *Schw. med. w. schr.* 77 No. 25/26, blz. 657.
51. K. Schaller. Ueber die cholinesterasen des menschlichen blutes. *Zeitschrift für klinische Medizin.* 1942, 141, 565.
52. Libbrecht. *De Arteriële Hypertoniën.* 1945.
53. E. Cantoni & O. Loewi. Inhibition of cholinesterase activity of nervous tissue by eserine (physostigmine in vivo). *J. pharmacol & exper. Therap.* 81: 67—71 May '44.
54. S. Etlis, O. Kraye & F. Plachtel. Break-down products of physostigmine; inhibitory effect on cholinesterase and pharmacol. action. *J. pharmacol & exper. Therap.* 79: 309—319, Dec. '43.
55. L. Massart & R. Dufait. Activations and inhibitions of cholinesterase. *Enzymologica.* 6: 282—286, '39.
Abstr. *Bull. soc. chim. biol.* 21: 1039, July—Aug. '39.
56. R. Ammon. *Ergebnisse der Enzym forschung*, IV band 1935, 107.
57. D. Nachmansohn. Inhibition by various substances *C.R. soc. de Biol.* 130: 1065—1068, '39.
58. E. Keeser. Modification by various medicaments. *Klin. w. schr.* 17: 1811, Dec. 17, '38.
59. E. Kahane & J. Levy. Role of anti-cholin. action of physostigmine in mechanism. of sensitisation to acetylcholine. *Arch. Inf. de Pharmac. et de therap.* 57: 467—488, Dec. 31, '37.
60. D. Nachmansohn. Cholinesterase in voluntary muscle. *J. of Biochemistry* 1943.
61. R. H. S. Thompson and V. P. Whittaker. The esterases of the skin. *Biochem. J.* volume 38, No. 4, page 295, 1947.
62. Annual. Cholinesterases. *Review of Biochemistry* 1946.
63. B. Bender. Kinetics of cholinesterase in Blood and spinal fluid. *The Americ. J. of physiol.* 126, 1939, 180.

64. G. Kahlson and F. Mac. Intosh. *Journal of physiol.* 96, 1939.
65. B. Glasson. Répartition des cholinesterases dans le sang humain. *Schweiz. Med. w. schr.* 46, 1011, 1945.
66. G. Anfinson. The distribution of cholinesterase in the bovine retina. *Journal of Biologic. chemistry*, volume 152, 1944, p. 267.
67. H. Waelsch, H. Rackow. Natural and synthetic. inhibitors. *Science* 96, 1942, blz. 386.
68. P. Payot. Ueber die Hemmung der enzymatische Acetylcholin-spaltung durch anti-histaminica und Anaesthetica. *Schw. Med. 2. schr.* 45, 1946, blz. 1159—1161.
69. E. Frommel, E. Aaron, A. Herschberg, J. Piquet et A. Goldfeder. L'influence de histamine à l'acetylcholine et le cholinesterase. *Helvetica physiolog. et pharmac. acta* vol. 2, Fasc. 1. 1944.
70. R. Ammon & K. Zipf. Inhibition of cholinesterase and pharmacological effects of local anaesthesia. *Kl. w. schr.* 20: 1176 Nov. 22, '41.
71. E. A. Teller & A. Bissegger 1943. Two types of inhibition of cholinesterase. *Helv. chim. acta* 26, 1619.
72. M. Harris & R. Harris (1944). Effect in vitro of curare alkaloids and crude curare preparations on „true” and pseudo-cholinesterase. *Proc. soc. exp. biol. N.Y.* 56, 223.
73. O. Miguel & W. F. Riker Jr. Effect of digitalis on cholinesterase. *Proc. soc. exp. Biol. & Med.* 60: 120—121, Oct. '45.
74. E. Martini, C. Torda, A. Zironi. The effect of tetanus toxin on the cholinesterase activity of the muscle of rats. *J. physiol.* (1939) 98, 168.
75. C. Wright, J. C. Sabine & H. F. Dorn. Inactivation by morphine, dilaudid, codeine and deso-morphine. *J. Pharmac. & exper. Therap.* 78, 375—385, Aug. '43.
76. C. Torda. Effect of cloroform and ether on activity of cholinesterase. *J. Pharmacol. & Exp. Therap.* 77, 50—53, Jan. '43.
77. E. Zeller. Inhibition of activity by antipyrine and antipyrine derivatives. *Verhandl. d. Vereins d. Schweiz. physiol.* P.P. 51—52, Jan. '42.
78. D. Nachmansohn, H. Schneemann. On the effect of drugs on cholinesterase. *The journal of biochemic. chemistry* 159, 239, 1945.
79. H. Waelsch and D. Nachmansohn. The effect of some drugs on cholinesterase. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* 54, 336, 1943.
80. E. Frommel, A. Herschberg, J. Piquet. L'effect des ions anorgan, sur le cholinesterase serique. *Helvetica physiol. et pharmacol. acta*, vol. 2 Fasc. 2, 1944.
81. A. Herschberg, E. Frommel, J. Piquet. Vit C. et cholinesterase. *Helvetica physiologic. et pharmacol.* vol. 2 Fasc. 3, 1947.

82. E. Frommel, M. Thalmeier, A. Herschberg, J. Piquet.
Choc traumatique et cholinesterase serique. *Helvet. Physiol. et pharmacol. acta.* vol. 1, Fasc. 4. 1943.
83. D. Nachmansohn. Mechanisme of action on nervous system; inhibition of action of cholinesterase. *C.R. Soc. de biol.* 129: 941—943, '38.
84. D. Glick & W. Antopol. Inhibition by thiamine (Vit B₁). *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 65. 389—394 April '39.
85. F. Schütz. Effect of barbiturates on the cholinesterase in different tissues. *J. Phys.* 102: 269—273, Dec. '31, '43.
86. F. Schütz. Mechanisme of drug (barbital) addiction and drug tolerance (relation to serum cholinesterase). *Nature, London* 148: 725, Dec. 13, '41.
87. A. Harvey, D. Grob, J. Lilienthal and B. Jones. Observations on the effect of di-iso-propylfluoro phosphate on human subjects. Seventeenth international phys. congrès Oxford July 1947.
88. D. Glick. Effect of tri-ortho-cresyl-phosphaat on activity of cholinesterase. *Nature, London* 148, 662—663, Nov. 29, '41.
89. B. Mendel, D. Mundell, F. Strelitz. Cholinesterase and Electrolytes. *Nature* 1939, 479.
90. F. Heim & W. Rohde. Effect of Various narcotics on cholinesterase activity. *Arch. f. exper. path. u. pharmacol.* 202: 215, '43.
91. W. Antopol, L. Tuchman & A. Schifrin. Cholinesterase activity of human sera special with reference to hyperthyreoidisme. *Proc. soc. exper. Biol. & Med.* 36: 46—50 Febr. '37.
92. E. Werle & G. Stüttgen. Serum cholinesterase in various conditions. *Klin. w.schr.* 21, 821—8222, Sept. 12, '42.
93. F. Heim & A. Fahr. Effect of various narcotics and of urea on cholinesterase activity. *Arch. f. exper. pathol. u. pharmacol.* 195: 59—70 '40.
94. Genuit u. Labenz. *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* 198 (1941) 369.
95. E. Aron, A. D. Herschberg & E. Frommel. L'influence des acides-amino sur le cholinesterase-serique. *Helvetica physiologica et pharmacol. acta*, vol. 2. Fasc. 4, 1944.
96. E. Frommel. L'action du chlorhydrate d'histidine en therapeutique dermatologique. *Revue Médicale de la Suisse Romande* 1946, No. 11, 25 Nov.
97. E. Frommel et J. Piquet. L'inhibition de la cholinesterase au cours du choc operatoire est-elle réellement une des causes du choc? *Journal suisse de Médecin* 76e année, 1946, No. 21, page 456.
98. E. Frommel et J. Piquet. La cholinesterase serique du cobaye soumis au gel expérimental. L'hypersensibilité de la souris gelée aux injections d'acetylcholine. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1 Sept. 1946.

99. E. Frommel et J. Piquet. La novococaïnisation de Lériché empêche — elle le choc opératoire des intraventions sur le péritoine? *Journal Suisse de Médecin* 76e année, 1946, No. 21, page 455.
100. F. Schütz. Serum cholinesterase in barbiturate addiction and epilepsie. *Quart. J. exp. physiol.* 33, 35—52, Sept. '44.
101. K. Lissak, E. K. Nagy & J. Pastor. Acetylcholine content and cholinesterase activity of muscles and nerves in various stages of transmission of neuro-muscular excitation. *Arch. f. d. ges. physiol.* 245: 783—789, '42.
102. F. Schütz. Mechanisme of drug (barbital) addiction and drug tolerance (relation to serum cholinesterase). *Nature, London* 48: 725 Dec. 13, '41.
103. F. T. v. Brücke, E. v. Hueber & H. Sarkander. Cholinesterase activity of human serum, especially in chronic obstipation, modification by thiamine hydrochloride. *Klin. w. schr.* 20: 587—591 June 7, '41.
104. *Actualités Biochimiques*. No. 6, 1946. Acquisitions récentes dans la domaine de l'enzymologie. cholinesterase et choline-acetylase.
105. B. Mendel & R. Hawkins. The select. inhibition of the pseudo cholinesterase by di-iso-propyl-fluoro. phosphonaat. 17e phys. congrès Oxford, July 1947.
106. D. Nachmansohn. The effect of inhibitors of cholinesterase on conduction in nerve and muscle. 17e phys. congrès Oxford July 1947.
107. J. P. Quilliam. The sensitization of the heart to acetylcholine by di-iso-propyl-fluoro-phosphonaat. 17e phys. congrès Oxford, July 1947.
108. H. Blaschko, E. Bulbung, T. C. Chou. The correlation between the inhibition of cholinesterase and antagonisme to curare.
109. C. Heymans and J. Jacob (Gent). On the pharmacology of di-iso-propyl-fluoro-phosphonaat. 17e phys. congrès Oxford 1947 July.
110. C. Heymans, R. Pannier et R. Verbeke. L'influence des anti-cholinesterases prostigmine, eserine et di-iso-propyl-fluoro-phosphate, et de l'atropine sur la transmission centrale et peripherique des excitations nerveuses. *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, volume L XXII fasc. III et IV 1 Sept. 1946.
111. C. Heymans and R. Pannier. Influence of anti-cholinesterase Di-iso-propyl-fluoro-phosphate on cardio-vascular and Respiratory Reflexes of carotid Origin. *Proc. of the Soc. for exper. Biol. and Medicine* 1946, 62, 228.
112. Riker & F. Walter Jr. (New York). Observations upon the neuro muscular behavior of cats, chronically poisoned with di-iso-propyl-fluoro-phosphaat. 17e phys. congrès Oxford 1947

113. The action of certain drugs upon the autonomic system. The physiol. basis of medical practice blz. 945, 1945.
114. Th. Koppányi, A. G. Karczimar, Th. O. King. Tetra-ethyl-pyrophosphate on sympathetic ganglion activity. Science 21 Nov. 1947, vol. 106, 2760, P. 492—493.
115. D. Nachmansohn and E. A. Feld. On the mechanism of di-iso-propyl-fluoro-phosphate action in vivo. Studies on cholinesterase. The journal of Biolog. chemistry, vol. 171, Dec. 1947, No. 2, P. 715.
11. E. Aron, A. D. Herschberg, E. Frommel. L'influence de certains acides d'amino au cholinesterase serique. Helvetica physiolog. et pharmacologica acta vol. 2. Fasc. 4, 1944.
117. A. M. Fishberg. Hypertension and nephritis. blz. 555, 1944.
118. C. Page. Arterial Hypertension. Its diagnoses and treatment, blz. 37, 1946.
119. F. S. P. van Buchem. „De ziekten van het hart”, blz. 347, 1943.
120. F. S. P. van Buchem. Het syndroom van Page. Ned. Tijdschrift voor geneeskunde 91, No. 14, 1947, blz. 792.
121. R. A. M. C. Cance, E. M. Widdowson, A. D. Hutchinson. Effect of undernutrition and alterations in diet on the choline esterase activity of serum. Nature vol. 161, No. 4080, 10 Jan. 1948.
122. J. Davis. Effects of certain antianemie substances on serum cholinesterase activity. Yearbook of general medicine 1947, blz. 382.
123. J. E. Davis. Hyperchromic. anaemie produced by choline or acetylcholine and induced remission of both by Folic acid or Liver injection. Yearbook of general medicine 1947, blz. 381.
124. H. Laborit et P. Morand. La recherche de l'activité cholinestérasiq. Presse Médicale 16 Février 1946, No. 7, blz. 106.
125. E. Welsch. The interaction of drugs and enzyme systems. The pharmaceutical Journal 21 Dec. 1946.
126. A. Kaswin. Serum cholinesterase in Parkensonisme. Bull. acad. de Med. Paris 129, 346—347, May 22, June '45.
127. D. Vincent, J. de Prat. Serum cholinesterase in hepatic insufficiency syndromes.
128. E. Stedman and J. Russell. The choline esterase content of blood in myosthenia gravis. Biochem. J: 1937, 31, 1987.
129. W. Antopol, A. Schrifrin and L. Tuchman. Decreases of cholinesterase activity of the serum in jaundice. Proc. soc. Exper. Biol. and Med. 1938, 38, 363.
130. A. Milhorat. The cholinesterase activity of serum in disease. J. clin. investig. 1938, 17, 649.
131. E. Aron et A. Herschberg. La dosage de la cholinesterase en clinique. La Presse médicale. 16 Février 1946, No. 7, blz. 107.

132. P. Jucker. Effects of various methods of administering neostigmine in case of myasthenia gravis.
Schw. Med. w. schr. 73: 896, July 7 '43.
133. K. Schaller. Ueber die cholinesterase des menschlichen Blutes.
Zeitschrift für klinische Medizin 1942, 141, 565.
134. D. Vincent. Cholinesterase et pseudo-cholinesterase. Des difficultés d'interprétation des données apportées par l'étude de la cholinesterase du serum en pathologie. La presse médicale 7 Sept. 1946, No. 41, blz. 571.
135. J. Haguenau, J. Lefèbre & H. Kaufmann. Clinical, electric and humoral study of endocrinal muscular syndrome; hypothyreoidisme, generalised galvanatonic disturbance and modifications of cholinesterase. Bull. et mém. Soc. Med. d.Hop. de Paris 55: 994—1004, 3 Juli 1939.
136. P. Morand et H. Labout. La mesure de l'activité cholinestérasiqne du serum. La Presse médicale. 22 Fevrier No. 12, blz. 131, 1947.
137. D. Nachmansohn. On the role of acetylcholine in the mechanism of nerve activity. Recent progress in Hormane Research. Jan. 1948.

